

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

RADIOIMMUNOLOGISCH MESSBARES INSULIN (IMI)
IM SERUM KLINISCH GESUND ERSCHEINENDER HUNDE
UND BEI HUNDEN MIT DIABETES MELLITUS, HYPERCORTICISMUS
UND EXKRETORISCHER PANKREASINSUFFIZIENZ

I N A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Doris Becker
geb. Kurz
Tierärztin aus Wels/Österreich

Berlin 1971
Journal-Nr. 737



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. L. Felix Müller

RADIOIMMUNOLOGISCH MESSBARES INSULIN (IMI)
IM SERUM KLINISCH GESUND ERSCHEINENDER HUNDE
UND BEI HUNDEN MIT DIABETES MELLITUS, HYPERCORTICISMUS
UND EXKRETORISCHER PANKREASINSUFFIZIENZ

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

Vorgelegt von
Doris Becker
geb. Kurz
Tierärztin aus Wels/Österreich

Berlin 1971

Journal-Nr. 737

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches
Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin

Vorsitzender: Prof. Dr. J. Boch
Referent: Prof. Dr. E. Lettow
Correferent: Prof. Dr. Dr. K. Drepper

Tag der Promotion: 11. Februar 1971



	Seite
I. Einleitung	5
II. Insulinbestimmungsmethoden	7
III. Eigene Untersuchungen	12
1. Material	12
2. Durchführung der Insulinbestimmung	15
3. Berechnung des methodischen Fehlers	23
4. Voruntersuchungen	24
5. IMI bei klinisch gesunden Hunden	26
a. Nüchtern-Werte	26
b. Tagesprofile	33
c. Glucosebelastungen	44
6. IMI bei klinisch gesunden Katzen	64
7. IMI bei Hunden mit Diabetes mellitus	65
8. IMI bei Hunden mit Hypercorticismus	78
9. IMI bei Hunden mit exkretorischer Pankreasinsuffizienz	88
10. IMI bei adipösen Hunden	102
IV. Diskussion	103
V. Zusammenfassung	109
VI. Literaturverzeichnis	112

I. Einleitung:

In der folgenden Arbeit soll über die Bestimmung des Serum-Insulin-Spiegels klinisch gesund erscheinender Hunde berichtet werden.

Auf einen Überblick über die bisher erschienene Literatur zum Thema Insulin beim Hund wird im Rahmen dieser Arbeit verzichtet, weil zahlreiche Wissenschaftler auf diesem Gebiet experimentell arbeiten und bereits umfangreiche Literaturzusammenstellungen vorliegen. Erwähnt seien in erster Linie das "Handbuch des Diabetes mellitus", Herausgeber Ernst Pfeiffer (32) und die "Pathogenese des Diabetes mellitus", Herausgeber E. Klein (20).

Die bei gesunden Hunden ermittelten Werte sollen Grundlage für Untersuchungen am spontan erkrankten Tier sein.

Darüber hinaus wurden orientierende Untersuchungen bei Hunden mit Diabetes mellitus, mit Hypercorticismus und mit einer exkretorischen Pankreasinsuffizienz durchgeführt.

Beim Diabetes mellitus des Hundes ist es bisher noch ungeklärt, ob in jedem Fall ein Insulinmangel vorliegt - etwa vergleichbar den Verhältnissen beim sogenannten Jugenddiabetes des Menschen - oder ob es auch beim Hund Erkrankungsformen gibt, die mit hohen Serum-Insulin-Konzentrationen einhergehen, wie dies beim Altersdiabetes des Menschen beobachtet werden kann. In der Humanmedizin dient die Insulinbestimmung u.a. auch dazu, einen latenten Diabetes festzustellen. Durch systematische Untersuchungen bei Hund und Katze könnte ermittelt werden, ob bei diesen ein dem latenten Diabetes des Menschen ähnliches Stadium dem manifesten Diabetes mellitus vorausgeht.

Die Insulinbestimmungen bei Hunden mit Hypercorticismus und Hunden mit Adipositas wurden veranlaßt durch Beobachtungen aus der Humanmedizin, wo über hohe Insulinwerte berichtet wird. (17, 27, 42)

Der exkretorischen Pankreasinsuffizienz des Hundes liegt auffallend oft eine hochgradige Hypoplasie des exokrinen Pankreasgewebes zugrunde. In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage, ob mit einer solchen Hypoplasie nicht auch eine Funktionsminderung des Inselapparates einhergehen kann, zumal Ergebnisse von Glucose-Toleranz-Tests darauf hinzuweisen scheinen.

Lange Zeit konnten Insulinbestimmungen nur in der Forschung und in einigen Speziallabors durchgeführt werden, weil sie für die klinische Diagnostik mit einem zu hohen Aufwand an Arbeit und Kosten verbunden waren. Mit dem Radioimmunbesteck der Farbwerke Hoechst AG ist die Insulinbestimmung im Rahmen eines Kliniklabors möglich geworden.

II. Insulinbestimmungsmethoden:

1. Biologische Methoden

Dazu gehören die in der pharmazeutischen Industrie angewandten Methoden, bei denen der hypoglykämische Effekt am hungernden Versuchstier als Maß gilt. Diese Verfahren sind nur zur Aktivitätsbestimmung hochkonzentrierter Insulinlösungen anwendbar.

Um die Empfindlichkeit der Methode zu erhöhen, werden hypophys-ektomierte und adrenalectomierte Versuchstiere verwendet.

Weitaus empfindlichere Insulinbestimmungsmethoden sind die Rattendiaphragmamethode (12, 35, 46) und die Rattenfettmethode (25, 30, 37, 39). Bei beiden Verfahren wird der Glucoseverbrauch des isolierten Muskel- oder Fettgewebes gemessen. Diese Methoden zeichnen sich durch einen hohen methodischen Fehler aus. Die Fehlerbreite der Rattendiaphragmamethode wird mit 30 - 300% und die Fehlerbreite der Rattenfettmethode mit 60 - 170% angegeben (7).

Bei den biologischen Meßverfahren wird nicht das Hormon Insulin an sich bestimmt, sondern das Produkt der Wirkungen aus Insulin und Insulinantagonisten. In der englischen Literatur ist dafür der Begriff der ILA (insulin like activity) geprägt worden im Gegensatz zum IRI (immunoreactive insulin), womit allein das immunologisch meßbare Insulin (IMI im deutschen Sprachgebrauch) bezeichnet wird. ILA und IRI bzw. IMI-Werte korrelieren nicht miteinander, da die ILA-Werte nach Hypophysektomie und Pankreat-ektomie fast unverändert bleiben, das IMI aber nach diesen Operationen im Serum nicht mehr auffindbar ist (34, 39).

2. Radioimmunologische Methoden (10,13,15,19,24,26,28,31,43,51)

Diese von Yalow und Berson 1959 erstmals veröffentlichte Methode basiert auf der Beobachtung, daß Insulin mit einem spezifischen Antikörper reagiert. Serum unbekannter Insulinkonzentration wird mit einem Antiinsulinserum vom Meerschweinchen, das eine konstant

eingestellte Menge Antikörper enthält und radioaktiv markiertem Insulin bekannter Menge und Aktivität inkubiert. Die Antikörper binden sowohl Seruminsulin als auch radioaktiv markiertes Insulin. Durch verschiedene Trennverfahren können die entstandenen Antigen-Antikörper-Komplexe vom ungebundenen Insulin getrennt werden. Die gebräuchlichsten Trennmethoden sind die Papier- und Agarelektrophorese, die Präzipitation des löslichen Antikörper-Insulin-Komplexes mit Hilfe eines zweiten Antikörpers oder die Adsorption des freien Insulins an Ionenaustauscher Amberlite CG 400, Dowex, Cellulose MN 100, Quarz, Talkumpuder oder Holzkohle.

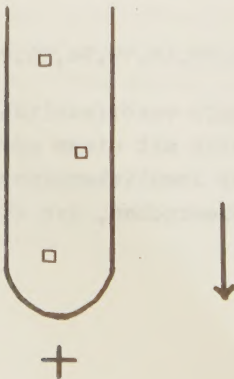
Das Prinzip der Radioimmunmethoden wird in der folgenden schematischen Darstellung wiedergegeben:

Erklärung der Zeichen:

- = Antikörper gegen Insulin
- △ = Seruminsulin
- ▲ = radioaktiv markiertes Insulin

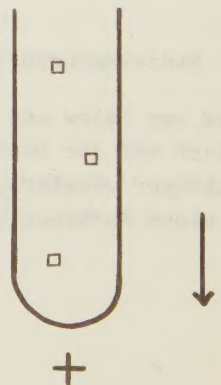
Fall A

bekannte Menge eines gegen Insulin spezifischen Antikörpers



Fall B

bekannte Menge eines gegen Insulin spezifischen Antikörpers



+

Serum mit geringer
Insulinkonzentration



+

bekannte Menge radioaktiv
markierten Insulins



+

Serum mit hoher
Insulinkonzentration



+

bekannte Menge radioaktiv
markierten Insulins



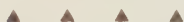
Reaktion



Trennung des antikörper-
gebundenen Insulins vom
freien Insulin



Bestimmung der Radio-
aktivität der antikörper-
gebundenen Phase



Reaktion



Trennung des antikörper-
gebundenen Insulins
vom freien Insulin



Bestimmung der Radio-
aktivität der antikörper-
gebundenen Phase



Enthält ein Serum wenig endogenes Insulin (Fall A), so wird
mehr markiertes Insulin an den Antikörper gebunden als im
Serum mit viel endogenem Insulin (Fall B).

Zur Zeit sind zwei Verfahren der radioimmunologischen Insulinbestimmung in der klinischen Diagnostik üblich.

A. Amersham Methode: (vom Radiochemical Centre England, zu beziehen über die Firma Buchler.)

Sie basiert auf den Untersuchungen von Hales und Randle (13). Das zu untersuchende Seruminsulin und ^{125}J -markiertes Insulin reagieren mit Antiinsulinserum vom Meerschweinchen. Die entstehenden löslichen Antigen-Antikörper-Komplexe verbinden sich mit einem zweiten Antikörper (spezifisch gegen Meerschweinchenglobulin) zu einem Komplex, der durch Mikrofiltration an einem Membranfilter ausgefällt wird. Danach wird die Radioaktivität im Filter bestimmt. Mit standardisiertem Insulin vom Menschen wird die Eichkurve aufgestellt und daran die Seruminsulinkonzentration abgelesen.

B. Radioimmunbesteck der Farbwerke Hoechst AG Dieses Verfahren basiert auf den Untersuchungen von Melani und Mitarbeitern (26), Meade u. M. (24) und Kerp u. M. (19). Das Seruminsulin und ^{125}J -markiertes Insulin reagieren mit einem gegen Insulin spezifischen Antikörper vom Meerschweinchen. Das übrig gebliebene freie Seruminsulin und das übrige freie ^{125}J -Insulin werden an Cellulose absorbiert; das an den Antikörper gebundene Seruminsulin und ^{125}J -Insulin bleiben im Überstand, dessen Radioaktivität bestimmt wird. Eine Eichkurve wird mit Schweineinsulin aufgestellt. Mit Hilfe eines Besteckes sind über 200 Messungen möglich; man muß aber dabei vor Augen haben, daß wegen der Eichwerte und der für jedes Serum notwendigen Kontrollen (siehe unter III, 2) unter der Voraussetzung, daß Doppelbestimmungen durchgeführt werden, maximal von 21 Patienten Material untersucht werden kann. Die Anzahl der durchzuführenden Untersuchungen erhöht sich nur dann, wenn von einem Patienten am selben Tag mehrere Serumproben (Glucose-Toleranz-Tests) zu bestimmen sind. Für die Anwendung in der Kleintierklinik wäre es günstiger, wenn man das Insulinbesteck auch wahlweise in einer kleineren Abpackung, z.B. für die Bestimmung von 5 - 10 Seren, erhalten könnte.

Wir haben uns aus folgenden Gründen für diese Methode entschieden:

1. Das Radioimmunbesteck ist in Deutschland erhältlich.
2. Es wird nur mit einem Antikörper gearbeitet und scheint deshalb spezifischer zu sein (Renold (36)).
3. Die Methode ist empfindlicher als die bisher üblichen (29).

III. Eigene Untersuchungen:

1. Material

Für die Bestimmung des IMI bei klinisch gesunden Hunden haben wir uns bemüht, die zu untersuchenden Tiere nach folgenden Gesichtspunkten auszuwählen:

a) Rasse: Wir haben uns, um ein möglichst homogenes Material zu haben, entschlossen, die Untersuchungen nur bei Teckeln (außer bei Zwergteckeln), Kleinpudeln und Schäferhunden durchzuführen, obgleich uns nichts über einen möglichen Einfluß der Rasse auf den Insulingehalt bekannt ist. Wir haben diese Rassen ausgewählt, weil sie in Berlin am häufigsten vertreten sind und sich in ihrem äußeren Erscheinungsbild sehr voneinander unterscheiden. In der englischen Literatur (50) wird zwar von einem gehäuftten Auftreten des Diabetes mellitus beim Teckel berichtet; dies trifft aber nach unseren Beobachtungen für die hiesigen Verhältnisse nicht zu.

b) Alter: Wir haben nur Hunde, die älter als 12 Monate sind, untersucht, weil bekannt ist, daß die verschiedenen Wachstums- und Entwicklungsphasen auf den Insulinspiegel einen erheblichen Einfluß haben.

c) Geschlecht: Es wurden Hunde beiderlei Geschlechts untersucht, jedoch keine Kastraten und keine Rüden mit ein- oder beidseitigem Kryptorchismus. Bei den Hündinnen haben wir die Tierbesitzer über Zeitpunkt und Verlauf der Läufigkeiten befragt. Oft konnten nur sehr unvollständige oder gar keine Angaben dazu gemacht werden. In den Tabellen sind nur die Zyklusangaben wiedergegeben, die uns zuverlässig erschienen. In allen anderen Fällen ist lediglich bekannt, daß die Hündinnen zum Zeitpunkt der Blutabnahme nicht läufig waren.

d) Kondition: Um von vornherein einen möglichen Einfluß von Fettleibigkeit auf den Seruminsulingehalt auszuschließen, waren wir bemüht, möglichst nur Hunde in guter Kondition zu untersuchen. Von guter Kondition sprechen wir dann, wenn man die Rippen, die Dornfortsätze der Brust- und Lendenwirbel (Procc. spinales) und die Hüfthöcker (Tubera coxae) des Tieres gut palpieren kann. Mangels standardisierter und meßbarer Kriterien für eine gute Kondition beim Hund bleibt nur die subjektive Beurteilung. Nach unserer Erfahrung ist auf die oben genannte Weise der Ernährungszustand eines Hundes noch am besten zu beurteilen. Unabhängig davon muß man vor Augen haben, daß selbst so viel gezüchtete Rassen, wie die von uns ausgewählten, in sich kein einheitliches Bild bieten. So gibt es z.B. neben ausgesprochen grazil erscheinenden Schäferhunden solche von kräftigem Bau, die, obgleich in guter Kondition, einen kompakteren Eindruck machen.

Von unseren Hunden waren 48 in Privatbesitz und 22 Diensthunde (sämtlich Schäferhunde) der Berliner Schutzpolizei. Über die **Haltungsbedingungen** der Privathunde können keine näheren Angaben gemacht werden, von den Schutzhunden ist lediglich bekannt, daß sie täglich acht Stunden im Dienst sind, sonst aber unter gleichen familiären Bedingungen wie Privathunde gehalten werden. Der Dienst des Schutzhundes beschränkt sich zumeist auf achtstündige ruhige Bewegung in frischer Luft. Abgesehen davon, daß diese Hunde ein Training zu absolvieren haben, bedeutet dieser Dienst vermutlich keine besondere körperliche Belastung für ein Lauf-tier wie den Hund.

Es wurden von vornherein nur klinisch gesund erscheinende Hunde ausgewählt und in jedem Fall eine Reihe von Zusatzuntersuchungen vorgenommen. Erst wenn diese keine abnormen Befunde ergaben, wurde das Seruminulin bestimmt. An Untersuchungen wurden ausgeführt: ein rotes und weißes Blutbild (Zahl der Erythrocyten, Leucozyten, Differentialblutbild), Blutsenkungsgeschwindigkeit, Blutzucker ¹⁾, Harnstoffgehalt des Blutes ²⁾, Na ³⁾, K ³⁾ Ca ³⁾, P ⁴⁾, Kreatinin ⁵⁾, Gesamteiweiß ⁶⁾ und Cholesterin ⁷⁾.

Das Blut wurde aus der V. cephalica antebrachii entnommen. Da nach Grimminger (11) durch Hämolyse Insulin abgebaut wird, wurde Serum, das eine sichtbare Hämolyse zeigte, verworfen.

Für die Untersuchung des Blutzucker- und Insulin-Tagesprofils standen uns fünf klinikeigene Hunde (Schäferhundbastarde, Hündinnen im Alter von 2 - 9 Jahren) zur Verfügung.

Orale Glucosebelastungen wurden bei fünf klinikeigenen Hunden (zwei Rüden und drei Hündinnen im Alter von 2 - 9 Jahren) und bei drei Hunden aus Privatbesitz (zwei Rüden und eine Hündin im Alter von 1 - 6 Jahren) durchgeführt. Technische Einzelheiten sind dem Kapitel III, 5c zu entnehmen.

-
- 1) o-Toluidin-Methode: Merckotest Blutzucker 3350/3353, Bestimmung im Plasma
 - 2) enzymatisch mit Urease (Urastrat Teststreifen Gödecke) ^{WZ}
 - 3) Flammenphotometrische Bestimmung am Eppendorf Photometer
 - 4) modifizierte Methode nach Fiske und Subbarow aus der Arbeitsanleitung zum Beckman Photometer für das Ultra-Mikro-Analytische System
 - 5) Methode nach de Vries und van Daatselaar (47)
 - 6) Biuret-Methode
 - 7) Methode nach Schönheimer und Sperry modifiziert nach Weller (49)

2. Durchführung der Insulinbestimmungen

Auf die ausführliche Beschreibung der Methode wird deshalb Wert gelegt, weil diese noch relativ neu ist und wir unsere eigenen Erfahrungen mit dem Radioimmunbesteck weitergeben wollen. ¹⁾

Benötigte Reagenzien:

1. Radioimmunbesteck Insulin (Farbwerke Hoechst AG)
bestehend aus:
 - a. Insulin vom Schwein, 10 mE (Farbwerke Hoechst AG)
 - b. Insulin-¹²⁵J, 2 mE, spez. Aktivität 100-200 mCi/mg (Farbwerke Hoechst AG) (Insulin vom Schwein mit 27 E/mg, bestimmt vor der Jodierung)
 - c. Insulin-Antikörper (Behringwerke AG) (Anti-Schweineinsulin-Serum vom Meerschweinchen)
2. Serumalbumin vom Rind, reinst, trocken (Behringwerke AG)
3. Natriumdihydrogenphosphat-1-hydrat (Merck, Darmstadt)
4. Natriumazid (als Bakteriostatikum) (Merck, Darmstadt)
5. Adsorptionsmittel:
 - a. Cellulose (Macherey & Nagel MN 300 zur Dünnschichtchromatographie) oder wahlweise
 - b. Ionenaustauscher Amberlite CG 400I (Farbwerke Hoechst AG)
6. Extran (Waschlösung) (Merck, Darmstadt)

¹⁾Die Firma Hoechst hat mir die Möglichkeit gegeben, im Radiochemischen Labor unter Anleitung von Frau Dr. Niemann in die Methode eingearbeitet zu werden, wofür ich an dieser Stelle ebenso wie für die freundliche Überlassung einiger Probebestecks danken möchte.

Wir haben anfangs beide Adsorptionsmittel verwendet und uns dann für die Cellulose entschieden, weil sie geruchlos ist, und weil sie nach dem Zentrifugieren am Boden des Zentrifugenglases besser haftet und die überstehende Flüssigkeit leichter quantitativ zu entnehmen ist.

Vorbereitung der Reagenzien:

Adsorbens:

Die Cellulose muß wegen der langen Aufbereitungszeit mindestens 3 Wochen vor Beginn einer Insulinbestimmung angesetzt werden. Circa 50 g Cellulose werden in einem Becherglas mit circa 1 Liter destilliertem Wasser 2 Stunden lang mit dem Elektromagnet-rührer gerührt, die Cellulose läßt man über Nacht gut absitzen, dekantiert den Überstand und rührt 3 Stunden lang mit circa 1 Liter vergälltem Äthylalkohol. Die Cellulose läßt man wiederum über Nacht absitzen und dekantiert den Alkohol so gut als möglich (eventuell mehrmals absitzen lassen und den sich bildenden geringen Überstand abgießen). Man gibt circa 1 Liter destilliertes Wasser auf die Cellulose, rührt 1 1/2 Stunden lang, läßt wieder über Nacht absitzen und dekantiert erneut. Diesen Waschvorgang wiederholt man so lange täglich, bis nach Abgießen des Wassers von der Cellulose kein "Alkoholgeruch" mehr wahrnehmbar ist. Das ist im allgemeinen nach 5-6maligem Waschen der Fall. Die Cellulose wird dann nochmals mit frischem destilliertem Wasser circa 10 Minuten lang gerührt und über der Porzellannutsche abgesaugt. Sie muß an der Luft trocknen (Dauer etwa 8 - 10 Tage). Der richtige Trocknungsgrad erscheint mir dann erreicht, wenn die Cellulose hart ist und sich schwer zerstampfen läßt; sie wird im Mörser pulverisiert und in einem Exsiccator über Blaugel bis zu ihrer Verwendung aufbewahrt.

Puffer:

5,52 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

1 g Natriumazid

und 2,5 g Rinderalbumin

werden nacheinander in circa 900 ml destilliertem Wasser

unter vorsichtigem Rühren gelöst. Mit 2n NaOH wird der pH unter Verwendung eines pH-Meters auf 7,4 eingestellt, der Puffer mit destilliertem Wasser auf 1000 ml aufgefüllt und zur Aufbewahrung in den Kühlschrank gebracht.

Arbeitsgang:

Die 21 Seren werden am Morgen des Bestimmungstages aus dem Gefrierschrank genommen, bei Zimmertemperatur aufgetaut und vor der Verwendung vorsichtig gemischt.

Das Insulin des Radioimmunbestecks wird in 1 ml destilliertem Wasser gelöst. In einem 25 ml-Meßkolben werden circa 20 ml Puffer vorgelegt, der Meßkolben vorsichtig geschwenkt, so daß der Puffer die Innenwand des Meßkolbens benetzt. Die Insulinlösung (1 ml) wird dann so in den Meßkolben überpipettiert, daß sie direkt auf den Puffer kommt und nicht an der Innenwand des Kolbens herunterläuft, da sonst das Insulin an der Glaswand haftet. Das Gefäß, in dem das Insulin aufgelöst wurde, wird mehrmals mit je 1 ml Puffer nachgespült und die Flüssigkeit in den Meßkolben gegeben; dieser wird mit Puffer auf 25 ml aufgefüllt und gut geschüttelt. Man erhält so die INSULIN-STAMMLÖSUNG.

Insulin-Standard-Lösungen:

In 9 10 ml-Meßkölbchen, die fortlaufend von a - i gekennzeichnet werden, werden jeweils 9 - 7 ml Puffer in absteigender Menge, wie oben beschrieben, vorgelegt. Von der gut gemischten Insulin-Stammlösung wird in

Nr. a	50 μ l	(Mikroliter - Pipette	Eppendorf)	=	2 μ E/ml
" b	100 μ l	"	"	=	4 μ E/ml
" c	150 μ l	"	"	=	6 μ E/ml
" d	200 μ l	"	"	=	8 μ E/ml
" e	300 μ l	"	"	=	12 μ E/ml
" f	500 μ l	"	"	=	20 μ E/ml
" g	700 μ l	"	"	=	28 μ E/ml
" h	1000 μ l	"	"	=	40 μ E/ml
" i	2000 μ l	"	"	=	80 μ E/ml

pipettiert, wobei ganz besonders bei den geringen Konzentrationen darauf geachtet werden muß, daß, wie schon beschrieben, die geringe Menge Insulin gut auf den Puffer pipettiert wird und nicht an der Innenwand des Meßkolbens herunterläuft. Die Meßkölbchen a - i werden mit Puffer auf 10 ml aufgefüllt und gut geschüttelt. Von den Insulin-Standard-Lösungen a - i gibt man in 3 Reagensgläser je 1 ml. Für jedes Serum werden für jede erste Abnahme 4 Reagensgläser mit je 0,8 ml Puffer + 0,2 ml Serum beschickt; für weitere am selben Tag entnommene Proben eines Probanden (z.B. bei einer Glucosebelastung) braucht man 2 mal 0,8 ml Puffer + 0,2 ml Serum.

Insulin-¹²⁵J-Lösungen:

Insulin ¹²⁵J wird in 2 ml destilliertem Wasser gelöst. Einen 10 ml-Meßkolben beschickt man mit circa 5 ml Puffer, die 2 ml Insulin-¹²⁵J-Lösung werden (wie bei den Insulinlösungen ausführlich beschrieben) überpipettiert, aufgefüllt und gut gemischt. Man erhält so die INSULIN-¹²⁵J-STANDLÖSUNG.

In einem 50 ml-Meßkolben werden circa 40 ml Puffer vorgelegt, 1,5 ml der gut gemischten Insulin-¹²⁵J-Lösung dazugegeben und mit Puffer aufgefüllt. Man erhält so die Insulin-¹²⁵J-Kontrolllösung, die vor ihrer Verwendung circa 10 Minuten lang gerührt wird. Während dieser Zeit werden in einem 250 ml-Meßkolben 200 ml Puffer vorgelegt und der in 1 ml destilliertem Wasser gelöste Insulin-Antikörper (wie bereits mehrfach beschrieben) in den Meßkolben überführt. Dieser wird in ein Becherglas gestellt, in dem sich mit Eisstückchen gekühltes Wasser befindet.

Standardkontrollen:

Von den 4 Reagensgläsern, die bereits je 0,2 ml Serum der ersten Abnahme eines Glucose-Toleranz-Testes beispielsweise, + 0,8 ml Puffer enthalten, werden ebenso wie bei den 4 in gleicher Weise beschickten Reagensgläsern eines jeden Serums die ersten 2 mit je 1 ml Kontrolllösung beschickt.

In den inzwischen gut gekühlten Meßkolben (250 ml) werden dem Insulin-Antikörper 7,5 ml der Insulin- ^{125}J -Stammlösung unter Rühren im Eisbad zugeführt ¹⁾, der Meßkolben mit Puffer aufgefüllt und diese Mischung 10 Minuten lang im Eisbad weiter gerührt. Man erhält so die Insulin- ^{125}J -Reaktionslösung.²⁾

Damit man später die Reaktionslösung besser auspipettieren kann, wird immer ein Teil der Lösung in ein kleines Erlenmeyerkölbchen übergegossen, das ebenfalls in einem Eisbad gekühlt wird. Mit einer Eppendorf-Mikroliter-Pipette wird je 1 ml der Reaktionslösung auf 2 mal 3 Reagensgläser, die alle 1 ml Puffer enthalten, pipettiert. Alle Reagensgläser mit den Insulin-Standard-Lösungen und alle restlichen Reagensgläser mit den Serumlösungen werden ebenfalls mit je 1 ml Insulin- ^{125}J -Reaktionslösung beschickt. Dabei muß wegen der unter ¹⁾ angegebenen Gründe darauf geachtet werden, daß die Lösung zügig auspipettiert und immer kühl gehalten wird. Zum Abschluß wird kontrolliert, ob jedes Reagensglas mit 2 ml Lösung gefüllt ist. Alle Gläser werden mit Parafilm WZ ³⁾ verschlossen und gemischt.

Die Lösungen inkubieren 17 Stunden bei Zimmertemperatur.

Übrig gebliebene Standardlösungen a - i können eingefroren und für weitere Insulinbestimmungen aufbewahrt werden. Restliche Insulin- ^{125}J -Stammlösung sowie gelöster Antikörper können ebenfalls eingefroren und innerhalb weniger Tage wieder verwendet werden. Die Reaktionslösung ist in jedem Falle zu verwerfen.

-
- 1) Sobald Antikörper und Insulin ^{125}J zusammentreffen, beginnt bereits die Antigen-Antikörper-Bindung, die durch das Eisbad so lange hintangehalten werden soll, bis auch das Seruminsulin an der Reaktion beteiligt ist.
 - 2) Falls nur Einzelbestimmungen der Seren durchgeführt werden sollen, ist entsprechend weniger anzusetzen.
 - 3) Firma Braun, Melsungen.

Nach 17-stündiger Inkubation werden alle Proben nochmals vorsichtig gemischt.

Von den 2 mal 3 Proben, die mit 1 ml Puffer + 1 ml Kontroll- bzw. Reaktionslösung beschickt sind, werden je 3 mal 1 ml entnommen und zur Bestimmung der Gesamtaktivität der Kontroll- bzw. Reaktionslösung in Plastikröhrchen pipettiert. Kontroll- und Reaktionslösung enthalten pro ml die gleiche Menge Insulin^{125J}, es müssen deshalb die gleichen Aktivitäten gemessen werden. Somit hat man eine Kontrolle, ob man exakt pipettiert hat.

Alle anderen Proben werden in mit je 110 - 150 mg Cellulose¹⁾ gefüllte Zentrifugengläser übergegossen, kurz aufgeschüttelt und in der Schüttelmaschine 1 Stunde lang so stark geschüttelt, daß Cellulose und Lösung gut durchgemischt werden. Die Cellulose wird anschließend in der Kühlzentrifuge bei 4° C 10 Minuten lang bei circa 5000 Umdrehungen pro Minute abzentrifugiert. Mit einer, wie unter²⁾ beschrieben, vorbereiteten 1000 µl-Eppendorf-Pipette wird je 1 ml der überstehenden Flüssigkeit aus den Zentrifugengläsern entnommen und in Plastikröhrchen pipettiert.

Die Plastikröhrchen wurden in einem Packard Auto-Gamma-Spektrometer Modell 3380 gemessen, wobei die Meßzeit immer so gewählt wurde, daß die Standardabweichung der durch das Zählgerät bedingten Streuung nicht größer als 1,0% war.

1) Diese Mengen können bei einiger Übung sehr gut geschätzt werden.

2) Einer 1000 µl Eppendorf-Pipette werden 2 rosa Pipettenspitzen übereinander aufgesetzt; an der ersten Spitze wird markiert, wie weit die zweite Spitze reicht und circa 2 - 3 mm weiter unterhalb in Richtung auf die Spitze wird diese abgesägt. Man erhält ein Verlängerungsstück, das, zwischen Pipette und Spitze gesetzt, ermöglicht, daß man mit der Pipette tief genug in die Zentrifugengläser hineinreicht.

Auswertung der Messungen:

Es werden die Nettoimpulse pro Minute ermittelt und bei den Doppel- bzw. Dreifachwerten (der Eichkurve) das arithmetische Mittel errechnet.

Die Proben, bei denen Puffer und Kontrollösung auf Cellulose gegeben wurden (Standardkontrolle), dienen zur Ermittlung der Adsorptionsfähigkeit der Cellulose. Man setzt die Gesamtaktivität der Insulin-¹²⁵J-Kontrollösung = 100%, die Aktivität der Standardkontrolle dazu ins Verhältnis und bestimmt den prozentualen Anteil der Aktivität, die an Cellulose adsorbiert wird. Bei den von mir durchgeführten Bestimmungen lag die Adsorptionsfähigkeit der Cellulose bei 86 - 92%.

Die Werte für die Standardkurve werden wie folgt berechnet:

Es wird der Quotient aus gebundenem zu freiem Insulin ermittelt nach der Formel:

$$\frac{\text{Standardwerte a - i}}{\text{Gesamtaktivität der Reaktions- oder Kontrollösung}} = \frac{\text{Standardkontrolle}}{\text{Standardwerte a - i}}$$

Die ermittelten Werte werden in Abhängigkeit von den zugehörigen Insulinkonzentrationen der Standardlösungen¹⁾ aufgetragen. Man erhält die auf Seite 22 dargestellte Eichkurve.

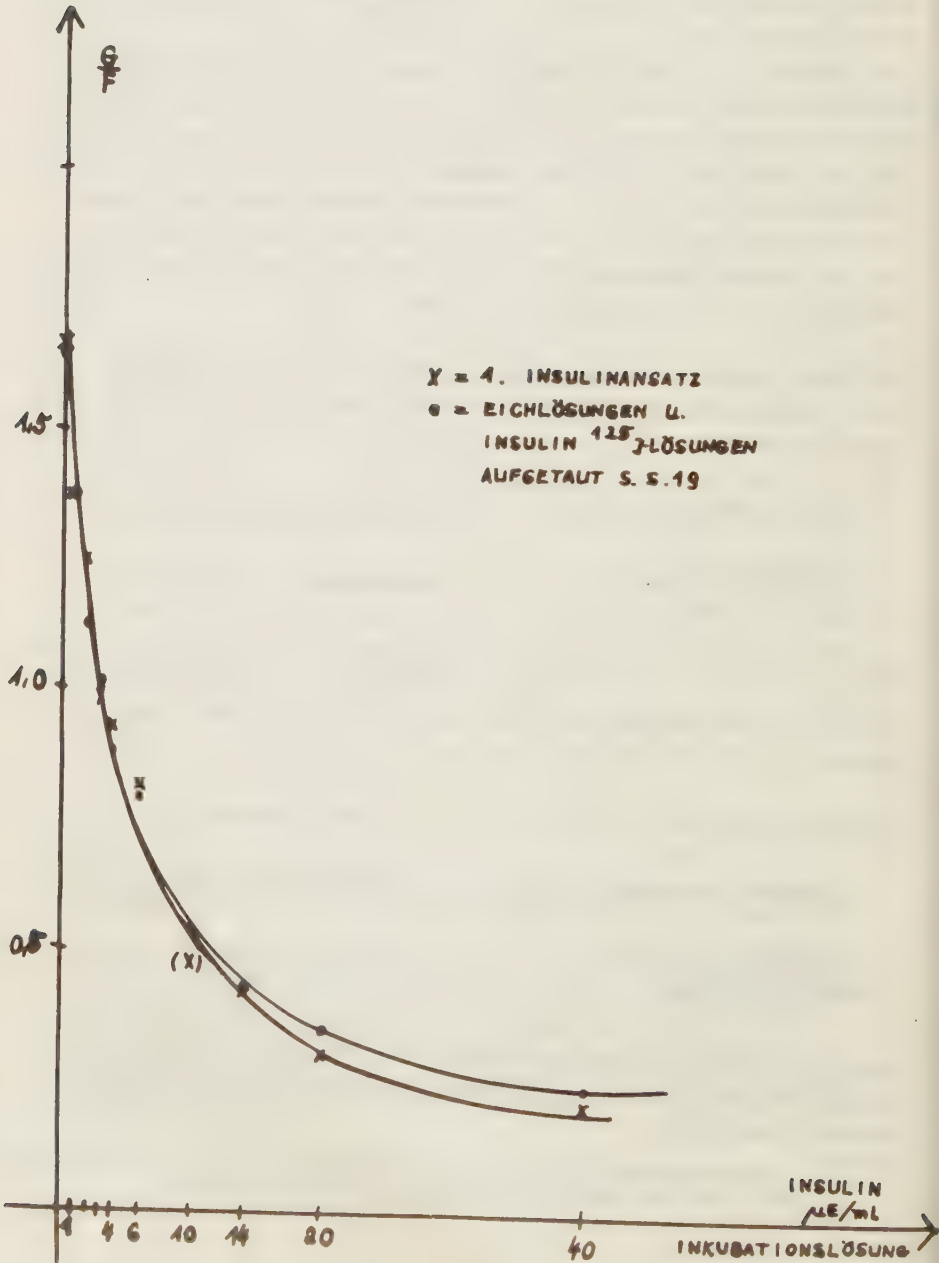
Die Serumwerte werden nach folgender Formel berechnet:

$$\frac{\text{Serumanalysenwerte 1 - 21}}{\text{Gesamtaktivität der Reaktions- oder Kontrollösung}} = \frac{\text{Serumkontrollwerte 1 - 21}}{\text{Serumanalysenwerte 1 - 21}}$$

Die ermittelten Quotienten werden auf der y-Achse aufgesucht; der zugehörige x-Wert entspricht der Insulinkonzentration der Inkubationslösung.

1) Die Insulinkonzentrationen der Standardwerte sind zu halbieren da nur 1 ml der Inkubationslösung verwendet wird.

EICHKURVE



Da das Serum insgesamt 1 : 10 verdünnt worden ist, erhält man die Insulinkonzentration von 1 ml Serum durch Multiplikation mit 10.

Die bestimmten Konzentrationen des Seruminsulins werden in $\mu\text{E/ml}$ Serum angegeben und sind auf einen Standard aus Schweineinsulin bezogen.

Reinigung der Reagensgläser:

Alle Reagensgläser und Meßkolben wurden unter Leitungswasser gut gespült, von Celluloseresten gründlich gesäubert und für circa 24 Stunden in eine 10%ige Extranlösung, die heiß angesetzt wurde, gelegt. Die Extranlösung wurde mit destilliertem Wasser gut abgespült, die Gläser 24 Stunden lang in destilliertes Wasser gelegt, anschließend bei 120°C im Trockenschrank getrocknet und von dort aus gleich wieder verwendet.

3. Berechnung des methodischen Fehlers

Zur Berechnung des methodischen Fehlers wurde einem nüchternen Hund Blut entnommen und das Serum zehnmal bestimmt. Es wurden Doppelbestimmungen durchgeführt; Serumkontrollwerte wurden für jede dieser 10 Bestimmungen angesetzt. Alle 10 Proben wurden an einem Tag unter gleichen Arbeitsbedingungen (gleicher Puffer, gleiche Cellulose, gleiches Radioimmunbesteck) aufgearbeitet und folgende Werte in $\mu\text{E/ml}$ ermittelt:

6, 10, 16, 8, 6, 10, 16, 10, 12, 11.

Somit betrug

das arithmetische Mittel	$\bar{x}$	=	10,5
die Standardabweichung	s	=	3,5
der Variabilitätskoeffizient (48)	v	= $\frac{s \cdot 100}{\bar{x}}$	= 33,37%

4. Voruntersuchungen

a. Aufbewahrung der Seren:

Circa 1 ml Serum wurde in ein Reagensglas gegeben und 3 - 4 mal dicht mit Parafilm ^{WZ} verschlossen. Ein einfacher Parafilmverschluß ist für die Aufbewahrung der Seren im Gefrierschrank nicht geeignet. Wir haben die Erfahrung gemacht, daß eingefrorene Seren in Reagensgläsern mit einfachem Parafilmverschluß im Gefrierschrank durch Gefriertrocknung an Volumen verlieren können.

b. Haltbarkeit:

Die Blutentnahmen erfolgten zwischen 10 und 13 Uhr; das Serum wurde bei Zimmertemperatur belassen und gegen 15 Uhr eingefroren. Die Lagerung erfolgte bei -22°C . Systematische Untersuchungen über die Haltbarkeit des immunologischen Insulins in tiefgefrorenen Seren wurden nicht angestellt. Wir haben bei Patienten zufällig gefunden, daß nach einer gewissen Lagerzeit das IMI verändert wurde und können daraus lediglich die Anregung entnehmen, die Haltbarkeit des IMI im Serum bei verschiedenen Erkrankungen des Hundes zu untersuchen.

Tabelle: Haltbarkeit des IMI.

Hund	<u>1. Bestimmung</u>	IMI	<u>2. Bestimmung</u>	IMI
	Aufbewahrung bei -22° (Tage)		Aufbewahrung bei -22° (Tage)	
		($\mu\text{E}/\text{ml}$)		($\mu\text{E}/\text{ml}$)
<u>a. kranke Tiere:</u>				
Teckel, w, 8 Jahre	1	28	54	20
Schäfer- hund, m, 3 Jahre	32	6	131	11
Teckel, w, 8 Jahre	22	59	36	46

Hund	<u>1. Bestimmung</u>		<u>2. Bestimmung</u>	
	Aufbewahrung	IMI	Aufbewahrung	IMI
	bei - 22° (Tage)	(μ E/ml)	bei - 22° (Tage)	(μ E/ml)
<u>b. gesunde Tiere:</u>				
Gina	8	10 (3. Bestimmung)	190 241	22 10
Nr. 2	11	23	80	24
Nr. 8	33	16	36	16
Nr. 25	84	36	104	37
Nr. 30	85	10	105	14
Nr. 3	91	22	113	24
Nr. 16	109	11	273	7
Nr. 37	241	24	399	22

Auf Grund der oben wiedergegebenen Befunde erscheint es uns, bevor weitere Erfahrungen vorliegen, ratsam, Seren nicht länger als 1 Jahr aufzubewahren. Bei den Normalwertbestimmungen sind die Seren mit Ausnahme von Nr. 37 nicht länger als ein halbes Jahr aufbewahrt worden.

c. Zerstörung des IMI durch wiederholtes Einfrieren:

Wir haben 6 Seren aufgetaut und für die Insulinbestimmungen einen Teil entnommen. Das restliche Serum wurde gleich nach der Entnahme wieder eingefroren und einige Wochen später erneut aufgetaut und bestimmt. Die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten Ergebnisse zeigen, daß schon zweimaliges Einfrieren das immunologisch nachweisbare Insulin zerstört.

Proben	<u>1. Bestimmung</u>	<u>2. Bestimmung</u>
	IMI (μ E/ml)	IMI (μ E/ml)
1	5	0
2	9	3
3	8	0
4	10	0
5	12	0
6	6	0

5. IMI bei klinisch gesunden Hunden

a. Nüchternwerte:

Von 83 klinisch gesunden Hunden wurden Nüchtern-Insulinspiegel bestimmt, von denen 71 für die Normalwertbestimmung herangezogen werden konnten. Die übrigen Fälle wurden aus folgenden Gründen herausgenommen: 3, weil die Tiere erst knapp 1 Jahr alt waren, 7 wegen stark abweichender Laborbefunde, 1 Fall, weil der Blutzucker nicht im Normalbereich lag¹⁾ und 1 Fall, weil angezweifelt werden mußte, daß der Hund nüchtern zur Operation gebracht worden ist. Bei einigen Hunden (Nr. 8, Nr. 20, Nr. 35 und Nr. 68) haben wir die Gelegenheit gehabt, an verschiedenen Tagen Blut zur Insulinbestimmung zu entnehmen. Mit einigen Ausnahmen konnte im Serum Insulin nachgewiesen werden. Bei 5 Hunden, bei denen dies nicht der Fall war, ist dies möglicherweise methodisch bedingt gewesen, denn wir haben bei 4 dieser 5 Hunde bei einer erneuten Untersuchung Insulinwerte gemessen, die im Bereich der Normalwerte lagen und deshalb die ersten Bestimmungen, bei denen kein Insulin gefunden wurde, nicht berücksichtigt. Die Ergebnisse dieser Wiederholungsbestimmungen sind in der Gruppe der 71 normalen Hunde enthalten. Es wurden Insulinspiegel von 2 - 50 μ E/ml Serum bestimmt. Die Einzelbefunde sind in den Tabellen 1 - 3 aufgeführt.

Zur Verteilung der Rassen und Geschlechter ist die Einschränkung zu machen, daß es nicht für alle Gruppen gelungen ist, eine ausreichende Anzahl von Tieren zu bekommen. So wurden wenig Teckelrüden (s.Tab.1) und wenig Schäferhündinnen (s.Tab.3) vorgestellt, die man zur Insulin-Normalwert-Bestimmung heranziehen können. Wegen der geringen Zahl der untersuchten Tiere und der ungleichen Verteilung der Geschlechter bei den beiden erwähnten Rassen können Zusammenhänge zwischen dem mittleren Insulinwert und dem Geschlecht nicht statistisch ermittelt werden. Es fällt auf, daß in unserem Material die IMI-Werte bei der Hündin etwas höher liegen als beim Rüden (s.Tab. 1 - 3). Aus diesem Grunde haben wir für das gesamte Material und für die

1) Wir haben als Normalbereich für den Blutzucker nach Schöbel (40) 50 - 92 mg% angenommen, ($\bar{x} \pm 2s$).

Tabelle 1

I M I bei Teckeln

Nr.	Haar- typ	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
<u>a. Rüden</u>						
1	Lgh.	13	9,5	81	8	Mittel aus 2 Doppel- bestimmungen
2	Lgh.	9	11,0	59	23	
3	Lgh.	7	10,4	67	23	
4	Lgh.	6	10,0	57	31	
5	Lgh.	11	10,0	56	36	
<u>b. Hündinnen</u>						
6	Lgh.	1 1/2	6,2	81	8	Glucosebelastung s. Seite Interöstrum im Ab- stand v. 10 Monaten 2. Läufigkeitstag 13. Läufigkeitstag
7	Lgh.	3	-	65	10	
8	Rh.	1 1/2	7,0	--	16	
				58	12	
				86	36	
9	Lgh.	8	6,7	67	12	
10	Rh.	12	ca.7	89	19	
11	Lgh.	5	10,5	53	35	
12	Lgh.	12	11,5	69	41	
13	Lgh.	14	12,0	55	42	
14	Lgh.	5	-	72	46	unmittelbar vor der Läufigkeit

Tabelle 2

I M I bei Pudeln

Nr.	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
<u>a. Rüden</u>					
15	5	-	65	8	
16	10	-	60	11	
17	12	20,0	54	11	
18	2	-	84	15	
19	7	-	89	16	
20	4	-	--	17	
			63	3	17 Tage später
21	2	7,5	82	22	
22	6	-	--	22	
23	12	14,0	67	23	
24	5	-	87	26	
25	11	11,5	73	36	
26	10	19,4	73	40	
<u>b. Hündinnen</u>					
27	7	-	71	4	
28	9	-	70	5	
29	10 1/2	7,0	64	7	
30	9	ca. 8,0	61	12	
31	9	13,5	64	13	Mittel aus 2 Doppel- bestimmungen
32	9	-	68	13	Mittel aus 2 Doppel- bestimmungen
33	7	9,5	67	14	
34	2	-	75	20	
35	11	11,0	63	20	
			55	27	12 Tage später

Nr.	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
36	9	-	71	23	
37	8	-	64	24	
38	6	-	91	24	
39	7	-	85	50	

Tabelle 3

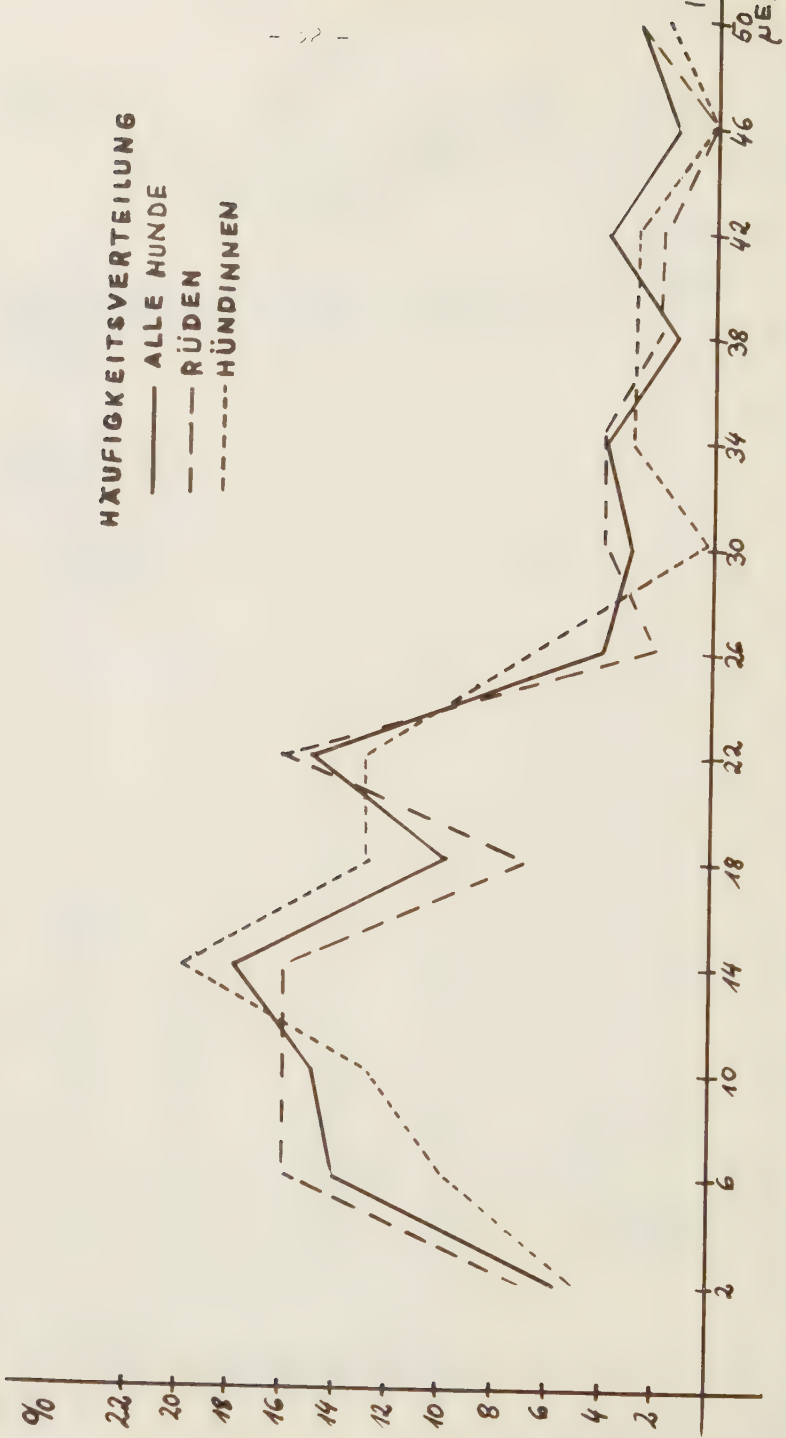
I M I bei Schäferhunden

Nr.	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
<u>a. Rüden</u>					
40	S ^{+) 5}	23	61	2	
41	2	36	80	4	
42	S 3	--	54	4	
43	S 7	--	78	6	
44	S 9	--	50	8	
45	S 10	--	63	8	
46	S 3	--	64	8	
47	7	40,8	38	8	
48	S 2	--	65	10	
49	S 7	--	54	10	
50	S 2	--	72	12	
51	S 10	--	75	12	
52	S 10	--	44	12	
53	S 8	--	66	14	
54	S 12	--	63	14	
55	S 3	--	76	16	
56	6	--	76	16	
57	S 11	--	75	16	
58	S 10	--	66	19	
59	5	--	75	20	
60	S 12	--	59	21	
61	S 5	--	88	23	
62	6	--	59	30	
63	12	--	58	44	Glucosebelastung s. Seite 46
64	S 6	--	58	50	

+) S = Diensthunde der Berliner Polizei

Nr.	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
<u>b. Hündinnen</u>					
65	7	--	53	12	letzte Läufigkeit vor 5 Monaten
66	S 1 1/2	--	62	15	13. Läufigkeitstag
67	S 9	--		16	
68	2	--	59 64 57	28 18 44	Blutabnahme an 3 aufeinander- folgenden Tagen
69	S 2	--	59	18	4 Wochen vor der Läufigkeit
70	9	--	90	21	
71	S 8	--	53	26	

HÄUFIG-
KEITEN



Geschlechter getrennt geprüft, ob eine Normalverteilung der Werte vorliegt. Schon die graphische Darstellung läßt erkennen, daß dies nicht der Fall ist. Da keine Normalverteilung vorliegt, die Werte außerdem stark streuen, erfolgt keine Berechnung des arithmetischen Mittelwertes.

b. Tagesprofile:

Auf Grund der Beobachtung, daß die IMI-Werte verschiedener Individuen zwischen 2 und 50 $\mu\text{E/ml}$ Serum liegen, haben wir untersucht, wie stark die IMI-Werte bei einem Individuum variieren. Dazu wurde 5 klinikeigenen Hunden während eines Tages stündlich Blut zur Blutzucker- und Insulinbestimmung entnommen. Die Blutzucker- und Insulin-Tagesprofile sind in den Tabellen 5 - 9 und den graphischen Darstellungen auf den Seiten 35, 37, 39, 41, 43 wiedergegeben. In allen Fällen blieben die Nüchtern-Insulin-Werte im Bereich der von uns ermittelten Normalwerte.

Die Schwankungen der Nüchternwerte für Blutzucker und Insulin bei den 5 Klinikunden werden in der nachfolgenden Übersicht aufgeführt.

Tabelle 4: Minimale und maximale Nüchtern-Werte für Blutzucker und IMI sowie deren Schwankungsbereich im Verlaufe von 12 Stunden.

Name	Minimaler Blutzucker- wert (mg%)	Maximaler Blutzucker- wert (mg%)	Schwankungs- breite (mg%)	Minimaler Insulin- wert ($\mu\text{E/ml}$)	Maximaler Insulin- wert ($\mu\text{E/ml}$)	Schwankungs- breite ($\mu\text{E/ml}$)
Heidi	57	65	8	1	18	17
Sandra	57	63	6	8	21	13
Jutta	60	77	17	0	28	28
Gina	54	70	16	0	13	13
Bärbel	48	68	20	0	10	10

Tabelle 5:

Tagesprofil "Bärbel"

	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	11 ⁰⁰	12 ⁰⁰	13 ⁰⁰	14 ⁰⁰	15 ⁰⁰	16 ⁰⁰	17 ⁰⁰	18 ⁰⁰	19 ⁰⁰	20 ⁰⁰
Blutzucker mg%	55	53	53	48	63	63	63	65	63	68	64	63	67
Insulin /uE/ml	2	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0

BÄRBEL

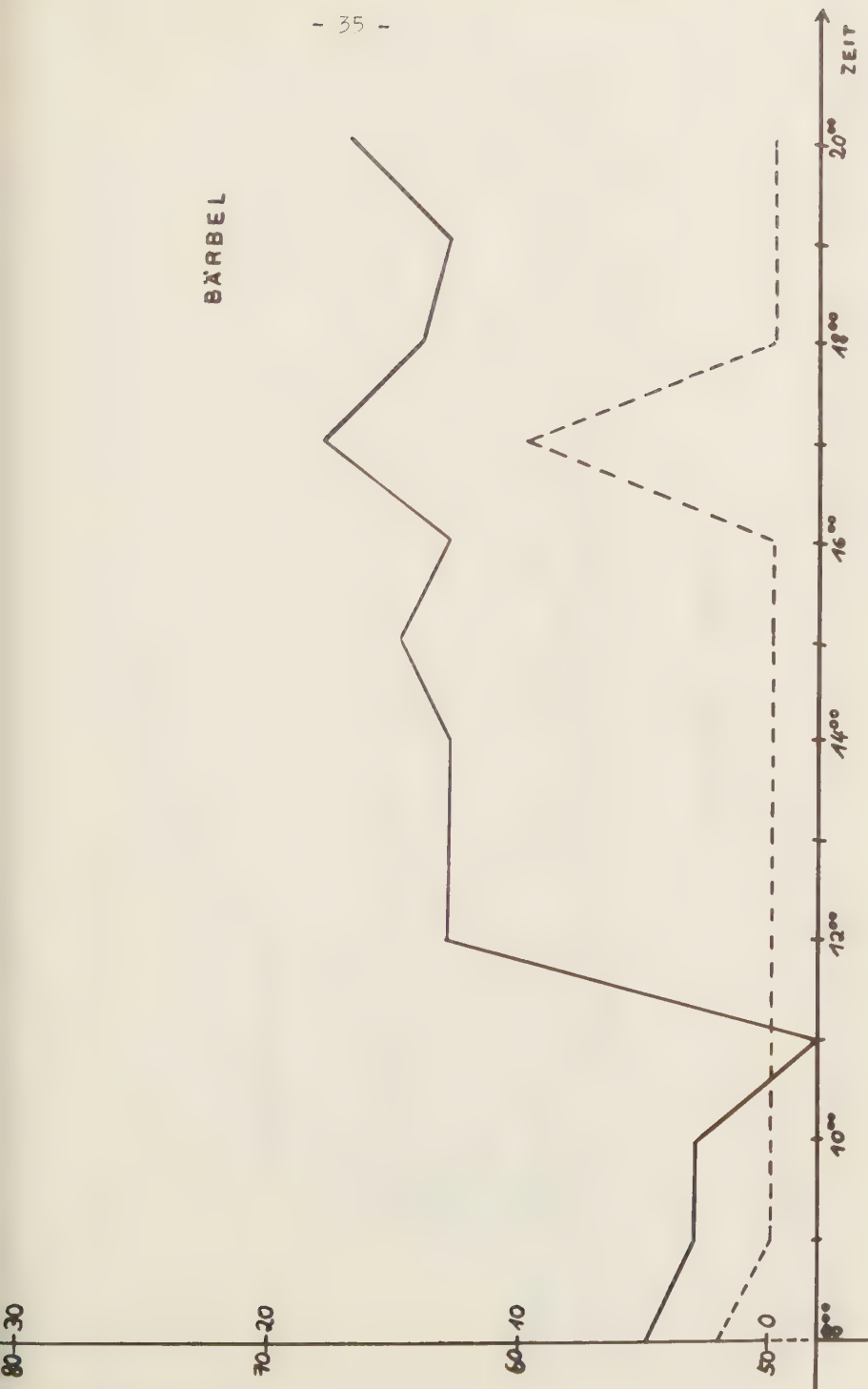


Tabelle 6:

Tagesprofil "Sandra"

	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	11 ⁰⁰	12 ⁰⁰	13 ⁰⁰	14 ⁰⁰	15 ⁰⁰	16 ⁰⁰	17 ⁰⁰	18 ⁰⁰	19 ⁰⁰	20 ⁰⁰
Blutzucker mg%	60	59	60	57	H	59	58	59	58	63	62	H	H
Insulin uE/ml	8	7	21	9	H	16	13	9	8	15	14	H	H

H = Proben hämolytisch

SANDRA

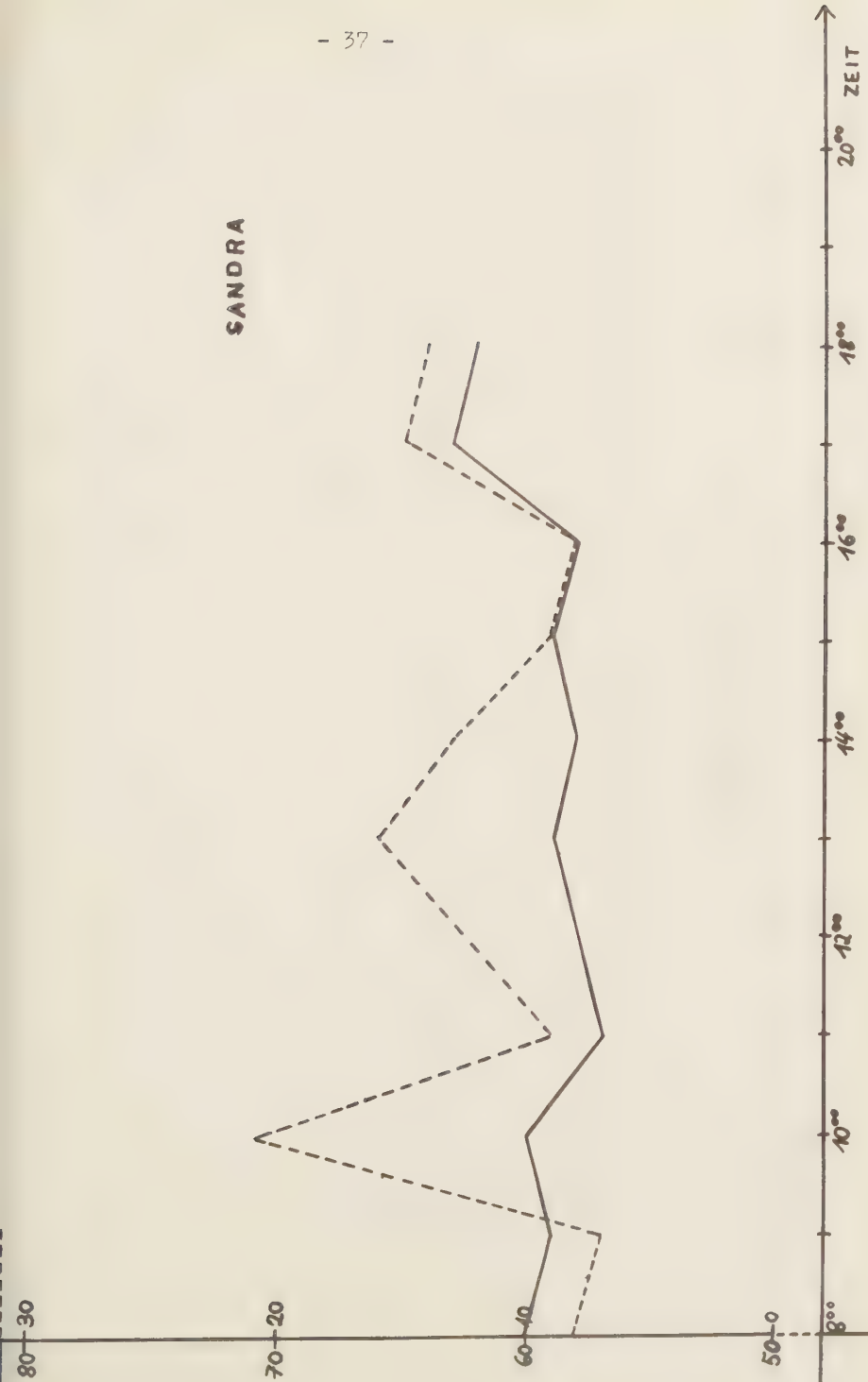


Tabelle 7:

Tagesprofil "Jutta"

	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	11 ⁰⁰	12 ⁰⁰	13 ⁰⁰	14 ⁰⁰	15 ⁰⁰	16 ⁰⁰	17 ⁰⁰	18 ⁰⁰	19 ⁰⁰	20 ⁰⁰
Blutzucker mg%	66	65	65	63	63	60	60	66	77	64	63	68	68
Insulin uE/ml	0	0	0	0	0	0	3	1	0	28	0	0	0

JUTTA

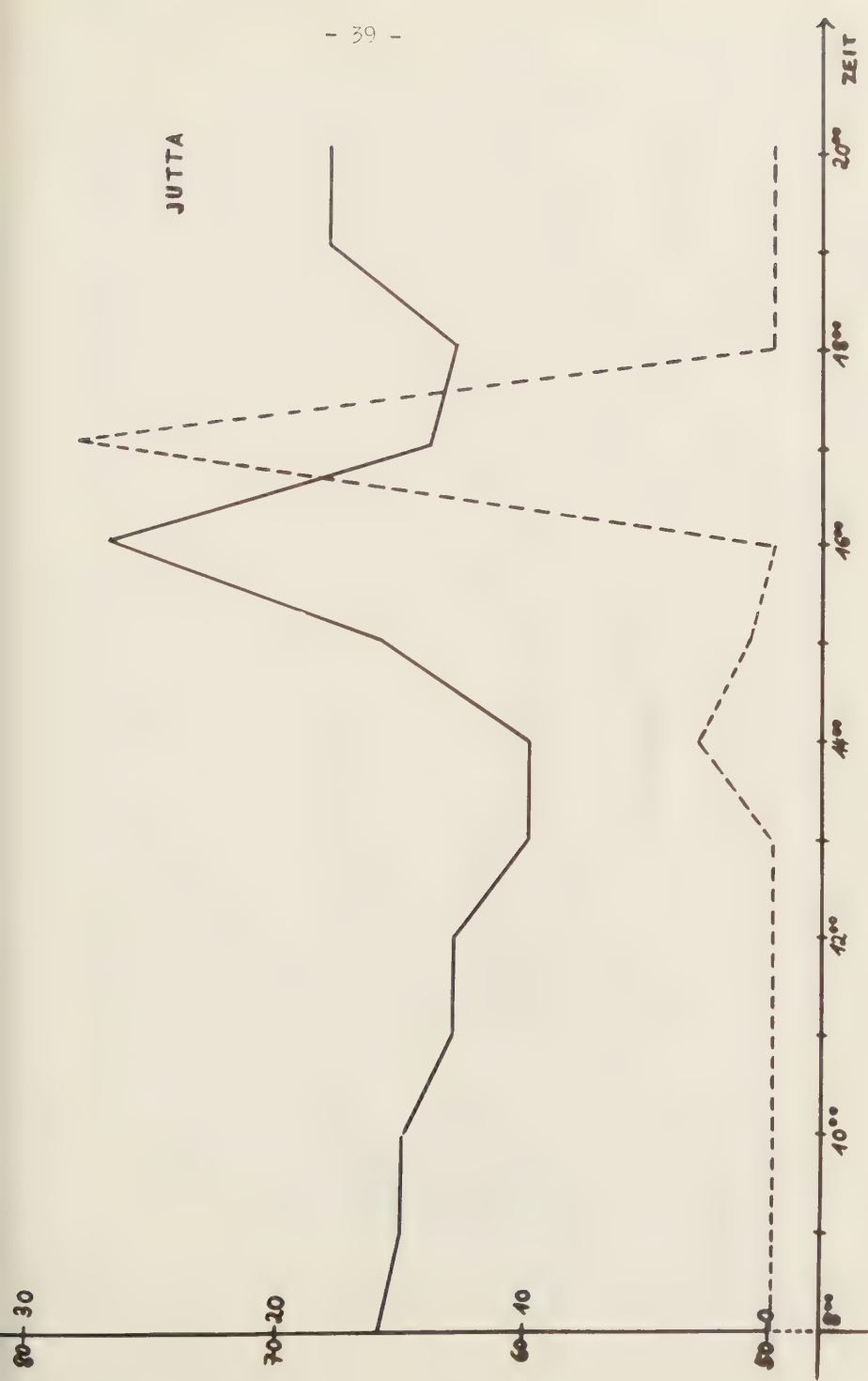


Tabelle 8:

Tagesprofil "Gina"

	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	11 ⁰⁰	12 ⁰⁰	13 ⁰⁰	14 ⁰⁰	15 ⁰⁰	16 ⁰⁰	17 ⁰⁰	18 ⁰⁰	19 ⁰⁰	20 ⁰⁰
Blutzucker mg%	59	59	59	54	63	61	60	60	70	63	59	58	62
Insulin µE/ml	0	/	5	10	13	0	5	7	9	8	2	4	4

GINA

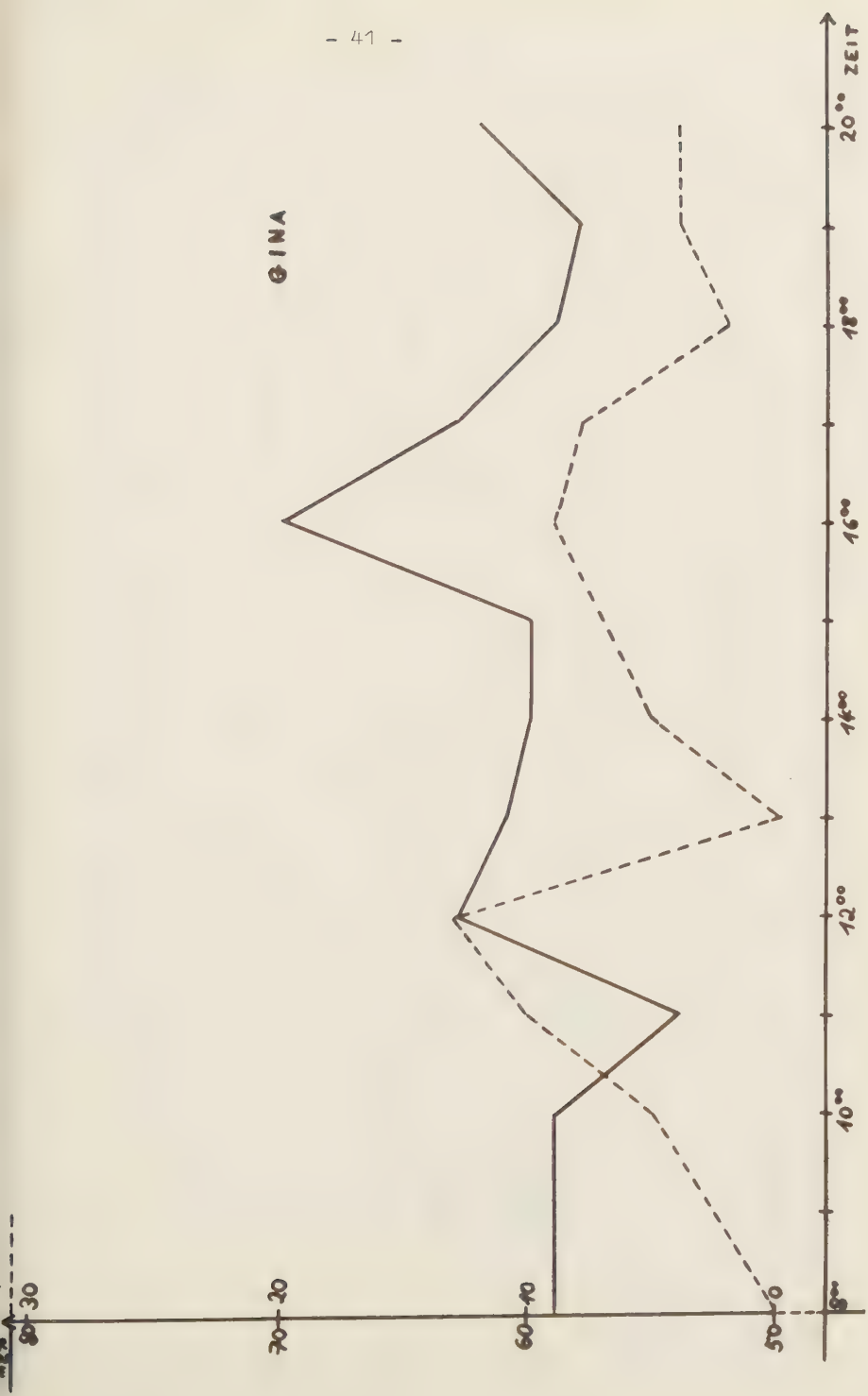
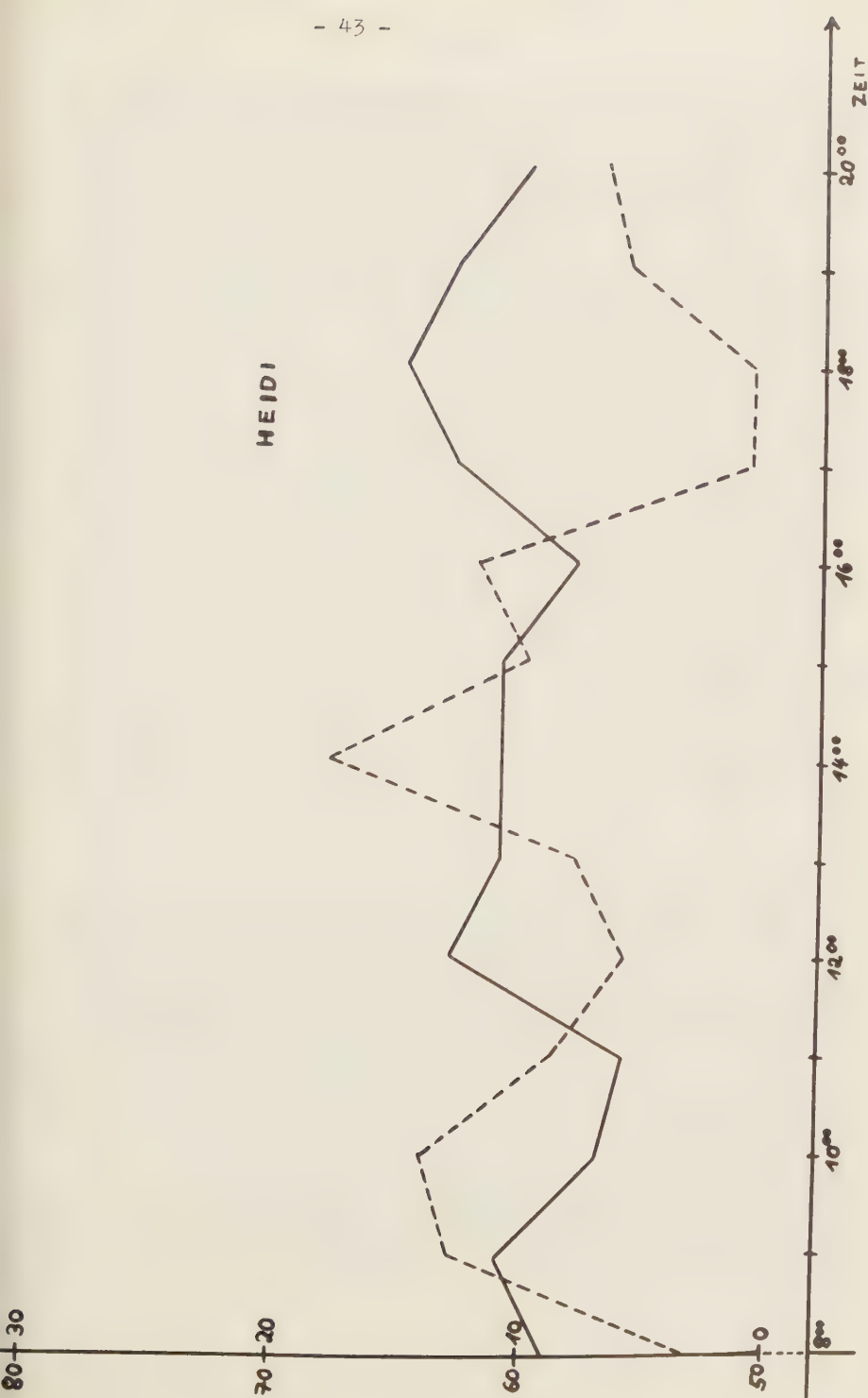


Tabelle 9:

Tagesprofil "Heidi"

	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ⁰⁰	11 ⁰⁰	12 ⁰⁰	13 ⁰⁰	14 ⁰⁰	15 ⁰⁰	16 ⁰⁰	17 ⁰⁰	18 ⁰⁰	19 ⁰⁰	20 ⁰⁰
Blutzucker mg%	59	61	57	56	63	61	61	61	58	63	65	63	60
Insulin µE/ml	5	13	14	9	6	8	18	10	12	1	1	6	7



Auffallend sind die Insulinkurven der Hunde "Jutta" (Tab. 7) und "Bärbel" (Tab. 5). Von 8 - 16 Uhr ist kein oder nur ein geringer Gehalt an IMI im Serum nachweisbar. Um 17 Uhr weisen beide Hunde einen Insulingehalt von 28 bzw. 10 μ E/ml Serum auf. Bei den auf Seite 26 erwähnten Insulinbestimmungen für den Normalwert hatten wir angenommen, daß möglicherweise durch unsachgemäße Aufbewahrung zwischen der Blutabnahme und dem Einfrieren des Serums das Insulin zerstört worden sein könnte. Bei den Tagesprofilen der Hunde "Jutta" und "Bärbel" halten wir die Möglichkeit einer nachträglichen Insulinzerstörung für ausgeschlossen, da alle Blutproben von allen 5 Hunden vollkommen gleich behandelt worden sind und außerdem deutlich wird, daß dem Insulinanstieg ein Anstieg des Blutzuckers vorausgeht. Wir können für die Tatsache, daß bei den Hunden "Jutta" und "Bärbel" im Serum kein IMI nachweisbar ist, keine Erklärung finden. Den Insulinanstieg nach 16 Uhr erklären wir uns als eine Insulinsekretion infolge Gewöhnung an einen regelmäßigen Fütterungszeitpunkt, da unsere klinikeigenen Hunde täglich gegen 16 Uhr gefüttert werden.

Betont werden muß, daß am Tage des Versuchs die Hunde aus ihren Käfigen herausgenommen waren und keine Möglichkeit hatten, Futter zu sehen, zu riechen oder von der Futterzubereitung zu hören.

c. Glucosebelastungen

Bei 8 klinisch gesunden Hunden wurden Glucosebelastungen durchgeführt. Die Untersuchungsergebnisse sollen als Beurteilungsgrundlage für entsprechende Untersuchungen an erkrankten Tieren dienen. Bei diesen Hunden wie auch bei den Patienten wurden orale Glucosebelastungen gewählt, weil es als erwiesen gilt, daß die intestinalen Hormone, insbesondere das Sekretin, die Insulinsekretion stärker stimulieren als ein Blutzuckeranstieg allein es vermag (16, 34).

Der Glucosebelastung ging jeweils eine etwa dreitägige Phase voraus, während der kohlenhydratreiche Kost gegeben wurde; dies ist deshalb wichtig, weil eine reine Fleischfütterung beim Hund eine herabgesetzte Glucosetoleranz hervorrufen kann (4, 14, 45).

Die Tiere waren zu Beginn der Glucosebelastung seit mindestens 12 Stunden nüchtern. Den Hunden wurde Blut zur Nüchtern-Blutzucker- und Nüchtern-Insulin-Bestimmung entnommen und anschließend pro kg Körpergewicht 1,5 g D-Glucose als 40%ige Lösung schluckweise in die Backentasche gegeben. Anschließend wurde Wasser in beliebiger Menge angeboten. Wir haben auf die vielfach geübte Weise, Glucose mit der Magensonde zu geben, verzichtet, weil nach unserer Erfahrung die Lösung weniger oft erbrochen wird. Nach Eingabe der Glucoselösung wurde alle 30 Minuten bis zu 3 Stunden Blut zur Blutzucker- und Insulinbestimmung entnommen. Die Blutzucker- und IMI-Werte sind in den Tabellen 10 - 17 wiedergegeben und auf den Seiten 47 - 61 graphisch dargestellt. Der höchste Anstieg des Blutzuckers ist in 5 Fällen nach 30 Minuten und in 2 Fällen nach 60 Minuten erreicht. Bei 6 Hunden steigt der Insulingehalt nach 30 Minuten und bei 1 Hund nach 60 Minuten auf den höchsten Wert. Nur in einem Fall ("Sandra", Tab. 17) verläuft die Blutzuckerkurve zweigipfelig. Der mittlere maximale Anstieg des Nüchtern-Blutzuckers beträgt 23,7 mg% und der entsprechende Anstieg des IMI 33,7 μ E/ml Serum.

Die Glucosebelastung des Hundes "Jutta" (Tab. 15) zeigt einen verzögerten, sehr geringen Glucoseanstieg um 10 mg% nach 60 Minuten und ein Ansteigen des Insulingehaltes um 4 μ E/ml Serum nach 120 Minuten. Wir können dieses merkwürdige Verhalten nicht erklären. Zu erwähnen wäre, daß bei demselben Hund beim Tagesprofil (Tab. 7) außer einem Insulin- und Glucosepeak zum gewohnten Fütterungszeitpunkt sonst kein Insulin meßbar war.

Zur Beurteilung der Glucose-Toleranz-Tests bei Patienten wurde die Mittelwertkurve aus diesen 8 Glucose-Toleranz-Tests ermittelt. Diese ist in der Tabelle 18 wiedergegeben.

Tabelle 10:

Glucosebelastung:

Nr. 62: Schäferhund, Rüde, 6 Jahre alt

Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	59	95	88	80	74	60
Insulin , uE/ml	30	85	78	45	34	29
						22

NR. 62

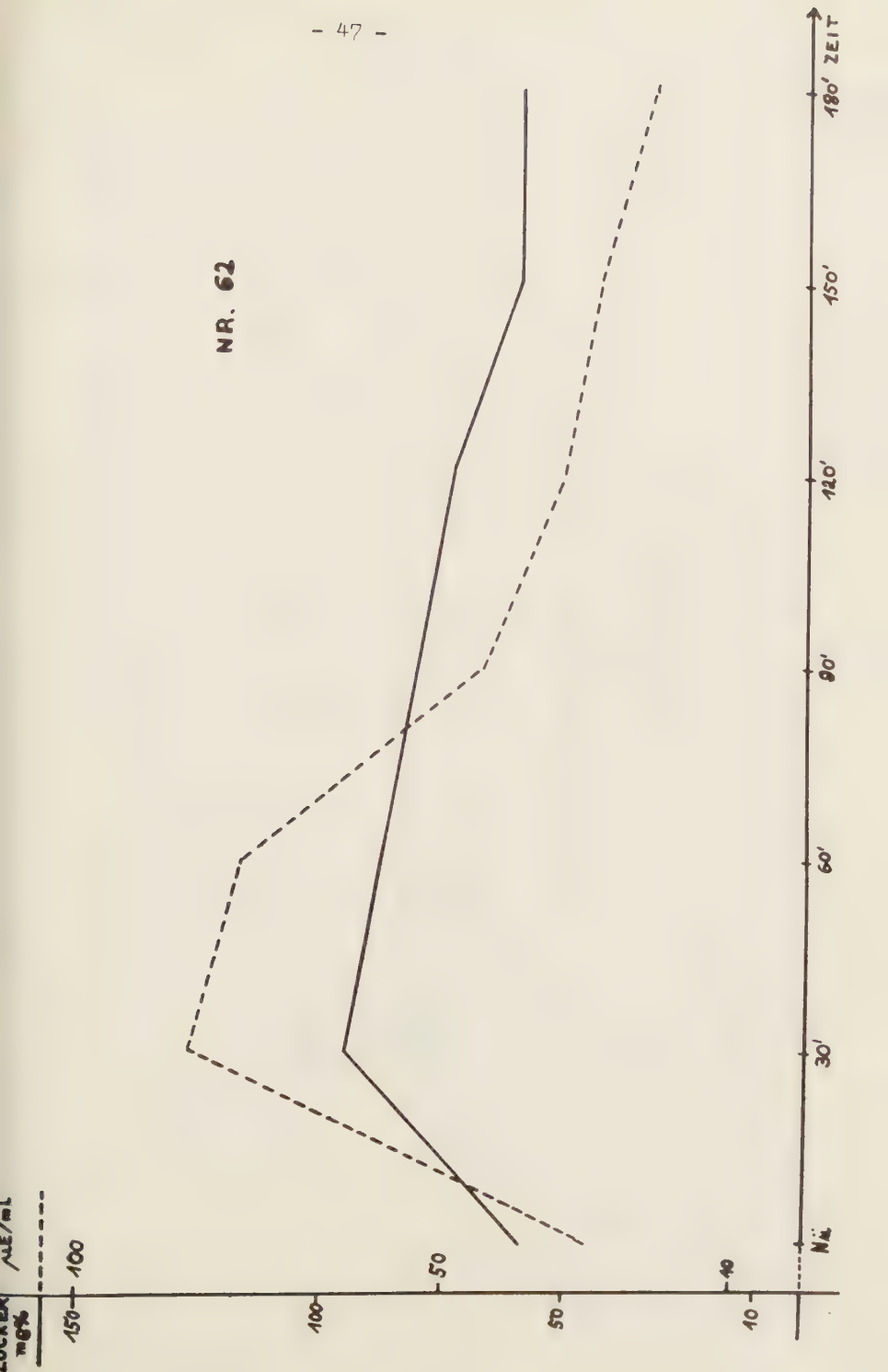


Tabelle 11:

Glucosebelastung:

Kuno: Schäferhundbastard, Rüde, 2 Jahre alt

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	71	78	84	81	78	74	70
Insulin IuE/ml	23	71	45	26	27	26	25

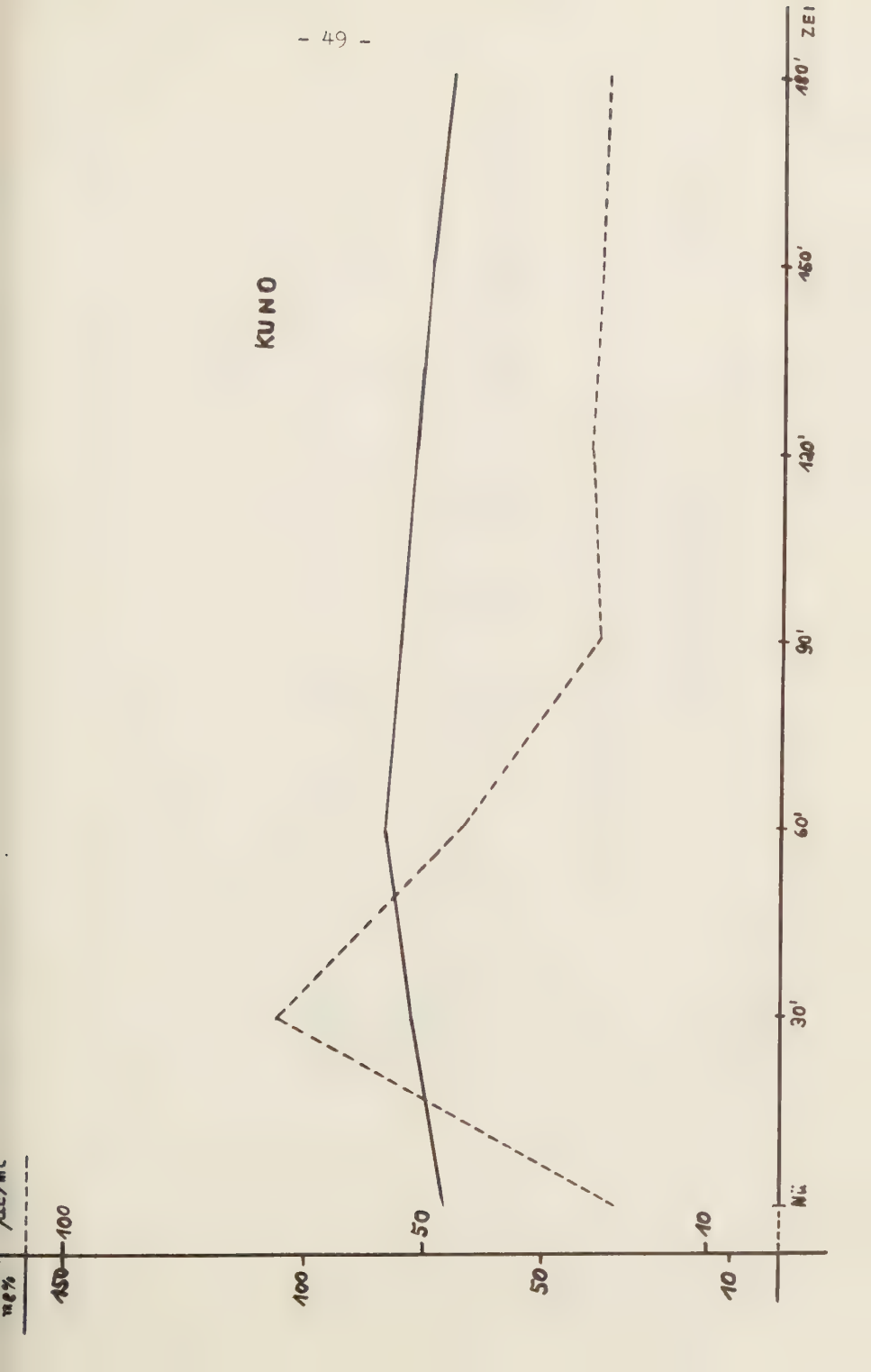


Tabelle 12:

Glucosebelastung:

Harras: Schäferhund-Boxer-Bastard, Rüde, 1 Jahr alt

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	64	85	73	79	67	58	58
Insulin uE/ml	13	68	-	58	8	10	20

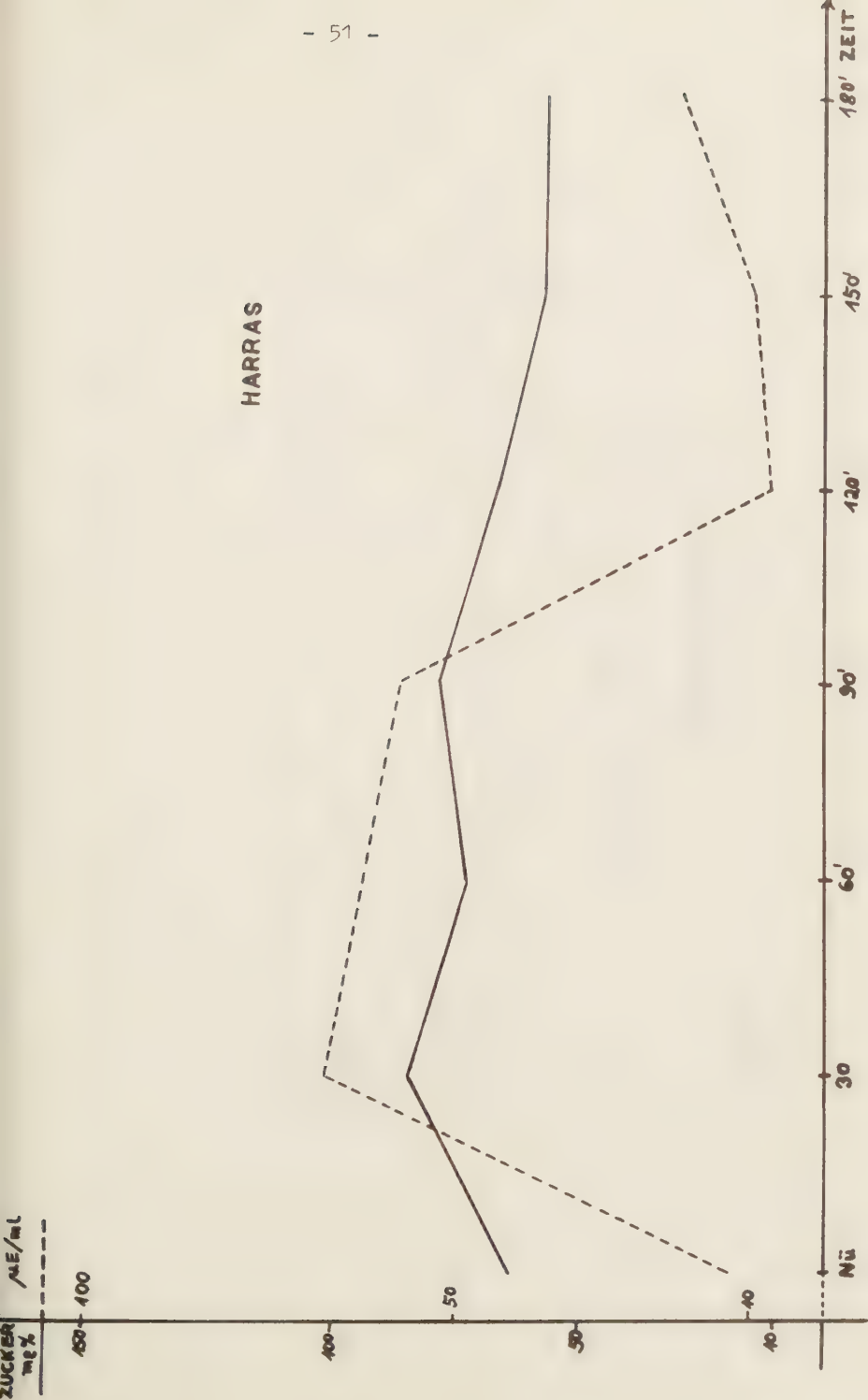


Tabelle 13:

Glucosebelastung:

Pe: Airedale, Rüde, 5 Jahre alt

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	58	96	83	49	59	86	59
Insulin uE/ml	8	28	76	2	18	3	15

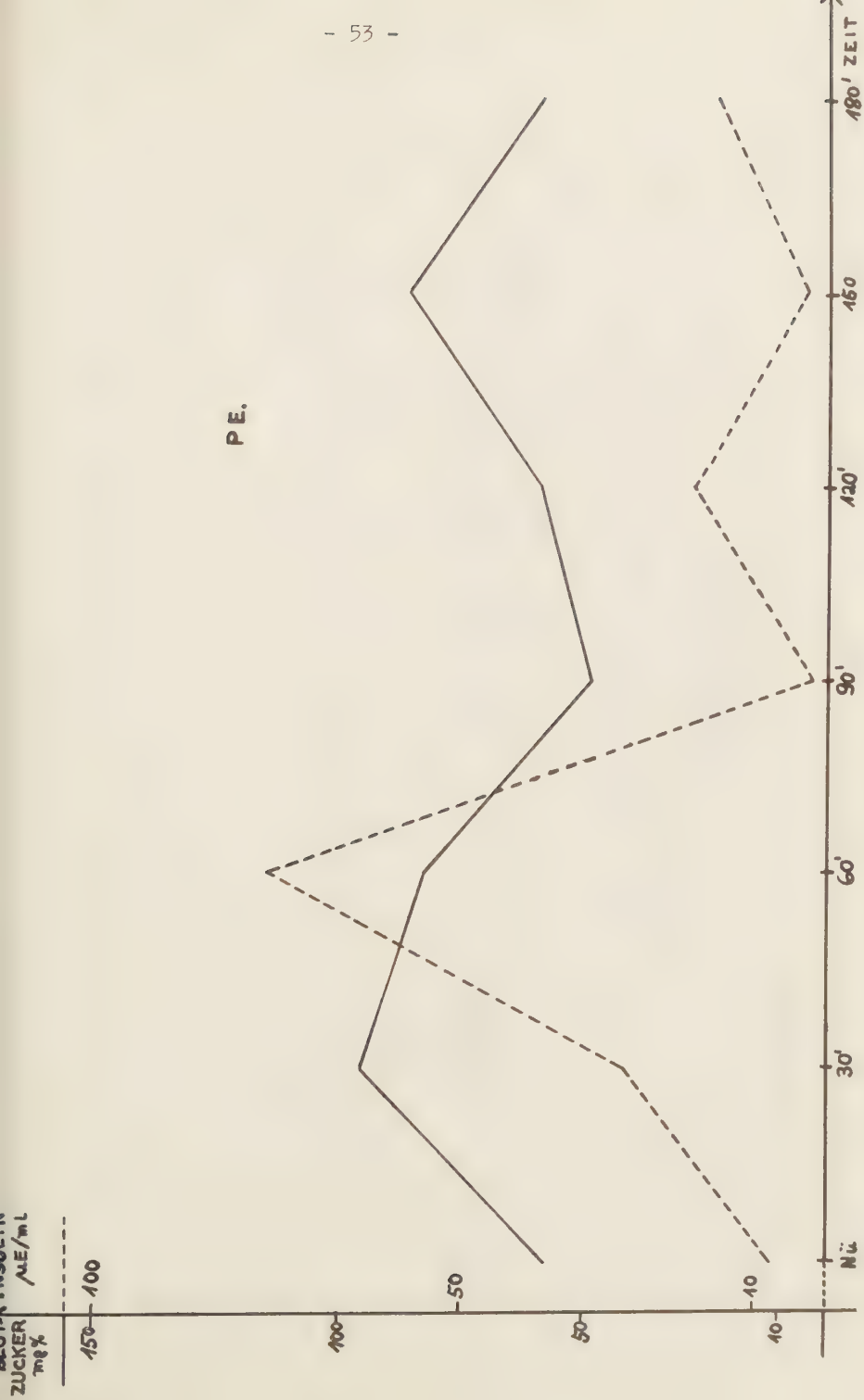


Tabelle 14:

Glucosebelastung:

Nr. 7: Langhaarteckel, Hündin, 3 Jahre alt

Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	65	116	97	77	72	69
Insulin u E/ml	10	28	22	9	10	20

BLUM INSULIN
ZUCKER
mg%

μE/ml

150—100

NR. 7

- 55 -



Nü

60'

90'

120'

150'

180' ZEIT

Tabelle 15:

Glucosebelastung:

Jutta: Schäferhundbastard, Hündin, 2 Jahre alt

Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	54	48	64	45	58	45
Insulin μE/ml	20	18	14	16	24	24

ZUCKER
mg %

$\mu\text{E}/\text{mL}$

150

100

50

50

10

10

JUTTA

Nü

30'

60'

90'

120'

150'

180'

ZEIT



Tabelle 16

Glucosebelastung:

Heidi: Schäferhundbastard, Hündin, 2 Jahre alt

Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	40	55	52	47	45	44
Insulin uE/ml	24	38	13	13	22	26

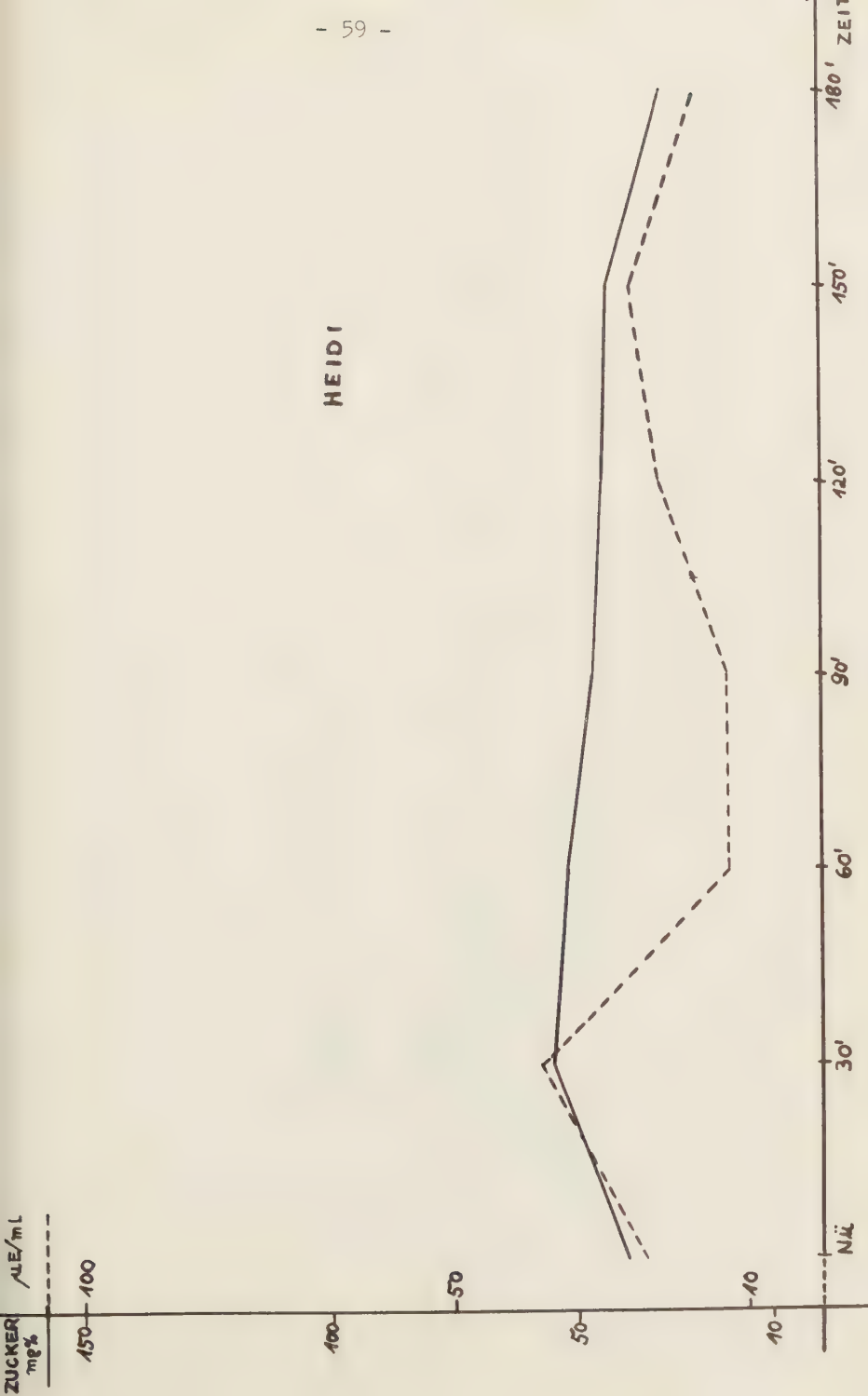


Tabelle 17:

Glucosebelastung:

Sandra: Schäferhundbastard, Hündin, 9 Jahre alt

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	64	91	102	98	80	68	63
Insulin μE/ml	9	71	32	51	19	19	16

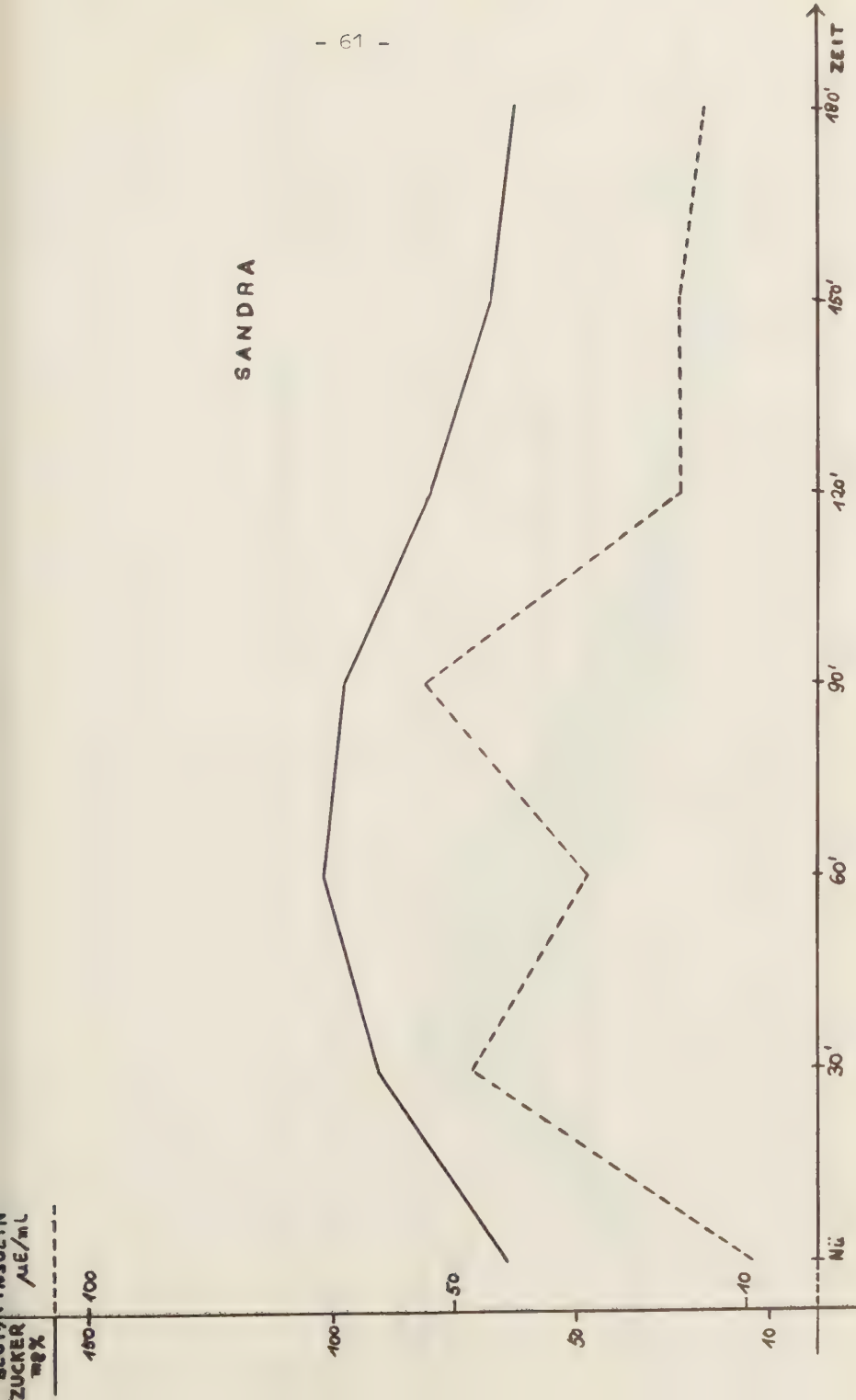


Tabelle 18

Mittelwert-Kurve der Glucosebelastung bei gesunden Hunden (Tabellen 10 - 17)
angegebene Werte = $\bar{x} \pm s$ (Mittelwerte und Standardabweichung) (44)

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker (mg%)	59,3 $\pm$ 3,3	83,0 $\pm$ 7,9	80,3 $\pm$ 5,9	69,5 $\pm$ 6,9	66,6 $\pm$ 4,2	63,1 $\pm$ 5,0	59,0 $\pm$ 4,0
Insulin (μ E/ml)	17,1 $\pm$ 2,9	50,8 $\pm$ 9,0	40,0 $\pm$ 10,4	27,5 $\pm$ 7,4	20,2 $\pm$ 3,0	18,5 $\pm$ 3,1	20,1 $\pm$ 3,7

ZUCKER
mg%

μE/mL

150
100

50

10

10

Nü

30'

60'

90'

120'

150'

180' ZEIT

MITTELWERT-KURVE

$n=8$

$\bar{x}$

$\bar{x} \pm s$

6. IMI bei klinisch gesunden Katzen

Um zu prüfen, ob mit dieser Methode auch immunologisch meßbares Insulin bei Katzen bestimmt werden kann, haben wir das Serum von 6 Katzen untersucht. Bei diesen Tieren wurden keine Zusatzuntersuchungen durchgeführt; sie waren aber augenscheinlich gesund und zum Zeitpunkt der Blutentnahme nüchtern.

Tabelle: IMI bei "gesunden" nüchternen Katzen

Nr.	Geschlecht	Alter	Insulin (μ E/ml Serum)
K 1	m	4 1/2 J	13
K 2	m, kastr.	1 1/2 J	14
K 3	?	?	14
K 4	w	8 Monate	10
K 5	w	5 J	17
K 6	?	?	5

In den Fällen K 3 und K 6 sind die Alters- und Geschlechtsangaben verloren gegangen.

Offensichtlich sind Insulinbestimmungen mit dem Radioimmunbesteck der Farbwerke Hoechst AG im Katzenserum möglich, und die hier ermittelten Werte liegen im Bereich der IMI-Werte klinisch gesund erscheinender Hunde.

7. IMI bei Hunden mit Diabetes mellitus

Wir haben bei einer Gruppe von 5 Rüden, 13 Hündinnen und bei einem kastrierten Kater mit Diabetes mellitus¹⁾ den Serum-Insulin-Gehalt bestimmt. Aus dieser Gruppe sind alle Fälle herausgenommen, bei denen auf Grund klinischer bzw. pathologisch-anatomischer Befunde zu vermuten war, daß der Diabetes mellitus im Zusammenhang mit Funktionsstörungen anderer inkretorischer Drüsen (insbesondere der Hypophyse und Nebenniere) bedingt sein könnte. Patienten, bei denen durch die pathologisch-anatomische Untersuchung eine akute Pankreatitis festgestellt wurde, sind in dieser Gruppe ebenfalls nicht enthalten.

Wir haben ferner nur die Diabetiker zur Insulinbestimmung ausgewählt, bei denen wir mit Sicherheit annehmen konnten, daß sie noch kein Fremdinsulin erhalten hatten. Da Patienten mit einem Diabetes mellitus zur Einstellung des Insulinbedarfs in der Klinik stationär aufgenommen wurden, waren wir sicher, daß die Tiere bei Blutabnahme seit mindestens 12 Stunden kein Futter bekommen hatten. Die Krankengeschichten sind auf den folgenden Seiten skizziert und die Insulinbefunde in den Tabellen 19 und 20 zusammengefaßt.

Zur Wiedergabe der Untersuchungsbefunde ist vor auszuschicken:

1. Es werden nur die Befunde aufgeführt, die im zeitlichen Zusammenhang mit der Insulinbestimmung erhoben wurden. Dabei ist nochmals darauf hinzuweisen, daß es sich jeweils um die Erstuntersuchungsbefunde nicht mit Insulin vorbehandelter Patienten handelt.
2. Es werden nur die vom Normalen abweichenden Befunde wiedergegeben.
3. Die Liste der hier aufgeführten Untersuchungen ist nur eine Auswahl der im Einzelfall durchgeführten.

1) Die Diagnose stützte sich in jedem Fall auf den Nachweis einer Hyperglykämie.

D 1: Zwergteckel, Rüde, 10 Jahre alt, 3,1 kg

Vorbericht: Seit einem halben Jahr beobachtete Corneastrübung, seit einigen Wochen Polydipsie, Abmagerung bei heftigem Appetit.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 244 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: pos.

kein Seruminsulin radio-
immunologisch nachweisbar

Krankheitsverlauf: Mit 9 IE Depot-Insulin Hoechst auf Blutzuckerwerte um 100 mg% einzustellen, Kontrollen bis 7 Wochen nach Beginn der Erkrankung, danach nicht wieder vorgestellt.

D 2: Kleinpudel, Rüde, 12 Jahre alt, 13,5 kg, leicht adipös

Vorbericht: Seit 3 Wochen ausgeprägte Polydipsie und Polyurie

Klinische Befunde:

Blutzucker: 240 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: neg.

alkalische Serumphosphatase: 34 KAE/ml

Seruminsulin: 9 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Zunächst zufriedenstellende Einstellung des Blutzuckers bei 10 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag, 14 Monate lang Behandlung mit ansteigenden Dosen von Insulin und gutem Allgemeinbefinden des Patienten, bei Auftreten von Hypoglykämie mit Verschlechterung des Allgemeinbefindens Tötung auf Wunsch des Besitzers.

Pathologisch-anatomische Diagnose:

Wahrscheinlich Inselatrophie und -fibrose im Pankreas, groß-tropfige Verfettung der Leberzellen, wahrscheinlich tubuläre Nephrose, Dilatatio cordis sinister. (Histologische Diagnosen durch fortgeschrittene Autolyse beeinträchtigt.)

D 3: Drahthaar-Foxterrier, Rüde, 10 Jahre alt, 10,5 kg

Vorbericht: Seit 3 Wochen Vomitus, Polydipsie, Abmagerung, seit der gleichen Zeit zunehmende Linsentrübung beobachtet.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	244 mg%
Glucose im Harn:	pos.
Acetonkörper im Harn:	neg.
Serumcholesterin:	514 mg%
Serumbilirubin:	1,14 mg%

Seruminsulin: 22 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Nach Gabe von 12 - 16 IE Depot-Insulin Hoechst täglich keine wesentliche Beeinflussung des Blutzuckers, Erhöhung der Insulingabe auf 24 IE erzeugte Hypoglykämie, an der der Patient trotz reichlicher Glucose- und Laevulosegabe bereits 3 Tage nach der Erstvorstellung gestorben ist.

Pathologisch-anatomische Diagnose:

Hochgradige, chronische, sklerosierende und atrophierende Pankreatitis, chronische Pyelonephritis und tubuläre Nephrose, Degeneratio hepatis (trübe Schwellung), Myodegeneratio cordis.

D 4: Kleinpudel, Rüde, 9 Jahre alt

Vorbericht: Seit 2 bis 3 Wochen Polydipsie und Polyurie, Abmagerung, seit 3 Tagen Vomitus.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	295 mg%
Glucose im Harn:	pos.
Acetonkörper im Harn:	pos.
Serumharnstoff:	130 mg%
alkalische Serumphosphatase:	18 KAE/ml

Seruminsulin: 23 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Trotz Gaben von 20 IE Long-Insulin Hoechst Anstieg des Blutzuckerspiegels auf 413 mg%, am darauffolgenden Tag 25 IE Depot-Insulin Hoechst, weitere Verschlechterung des Krankheitsbildes, Tötung.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Pfenniggroßes eiterndes Trachealgeschwür, eitrig-eitrige Bronchitis und eitrig-abszedierende Pneumonie, embolisch-eitrig-eitrige Pankreatitis mit Fettgewebsnekrosen, Endocarditis ulcero-polyposa der Mitralis, zentrolobuläre degenerative Leberzellverfettung, tubuläre Nephrose.

D 5: Pudel, Rüde, 11 Jahre alt

Vorbericht: 6 Tage vor der Vorstellung in der Klinik mit Antibioticum, Vitaminpräparat, Anabolicum und Kreislaufmittel vorbehandelt; Apathie, Inappetenz, seit 2 Tagen Vomitus.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	269 mg%
Glucose im Harn:	pos.
Serumcholesterin:	689 mg%
Serumharnstoff:	640 mg%
alkalische Serumphosphatase:	28 KAE/ml
	Seruminsulin: 63 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Behandlung mit Elektrolytinfusionen und 20 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag und K-Lactat, zusehende Verschlechterung, zunehmende Harnstoffretention, nach 2 Tagen gestorben.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Chronisch-rezidivierende Pyelonephritis mit hochgradiger glomerulärer Fibrose, Kolloidzyste im Bereich des Hypophysenzwischen- und -hinterlappens, keine signifikanten Veränderungen in der Bauchspeicheldrüse (HE-Färbung), vakuoläre Leberzelldegeneration, symmetrische Alopezie und Hyperkeratose am Rücken.

D 6: Pudel, Hündin, 13 Jahre alt

Vorbericht: Vom praktizierenden Kollegen zur Einstellung des Insulinbedarfs überwiesen.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 232 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: pos.

kein Seruminsulin radio-
immunologisch nachweisbar

Krankheitsverlauf: Mit 20 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag und Diät auf normale Blutzuckerwerte einzustellen, Verlaufsuntersuchungen bis zu 5 Wochen nach Therapiebeginn, danach nicht wieder vorgestellt.

D 7: Spitz, Hündin, 9 Jahre alt, adipös

Vorbericht: Letzte Läufigkeit 3 Monate zurückliegend, zum Zeitpunkt der Vorstellung Laktation (Scheinträchtigkeit), Polydipsie, gutes Allgemeinbefinden.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 257 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: pos.

kein Seruminsulin radio-
immunologisch nachweisbar

Krankheitsverlauf: Insulinbedarf schwankt zwischen 20 und 50 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag, nach fünfmonatiger Behandlung wird der Hund auf Wunsch der Besitzer eingeschläfert.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Atrophie der Langerhansschen Inseln, feintropfige Leberzellverfettung, feintropfige Verfettung der Nierenhauptstückepithelien, erbsengroßes Adenom der rechten Thyreoidea, Adipositas.

D 8: Langhaarteckel, Hündin, 8 Jahre alt

Vorbericht: Letzte Läufigkeit liegt 4 Monate zurück, seit 2 Wochen Polydipsie, seit 5 Tagen Vomitus.

Klinische Befunde:

Blutzucker 202 mg%
alkalische Serumphosphatase: 47 KAE/ml

Seruminsulin: 4 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Gute Einstellung des Insulinbedarfs bei 20 - 30 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag, nach einem Monat wird der Hund in einer Berliner Praxis wegen Lahmheit und starker Schmerzhaftigkeit im Halswirbelbereich eingeschläfert, keine Sektion.

D 9: Rauhaarteckel, Hündin, 10 Jahre alt, 10 kg

Vorbericht: Letzte Läufigkeit liegt 2 Monate zurück, seit 2 Wochen Polydipsie, seit 5 Tagen zeitweise Vomitus.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 281 mg%
Glucose im Harn: pos.

Seruminsulin: 10 μ E/ml

Krankheitsverlauf: 3 Wochen lang gute Einstellung des Blutzuckers bei 20 - 30 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag, Patient wird in einer Berliner Praxis wegen Apathie vorgestellt, erhält dort nach Blutzuckerkontrolle 60 IE Insulin, keine Besserung, der Hund stirbt, keine Sektion.

D 10: Kleinpudel, Hündin, 14 Jahre alt, 11,5 kg

Vorbericht: Keine Angaben über Zeitpunkt der vergangenen Läufigkeit, die Untersuchung erfolgt 6 Monate vor der nächsten Läufigkeit, seit 4 Wochen Polydipsie, Alopexie am Rücken, schütteres Haarkleid, beiderseitige Linsentrübung.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	262 mg%
Glucose im Harn:	pos.
Acetonkörper im Harn:	pos.
Serumcholesterin:	422 mg%
alkalische Serumphosphatase:	30 KAE/ml

Seruminsulin: 18 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Anfänglich mit 20 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag schwierig einzustellen, bei Erhöhung der Insulindosis auf 40 IE immer stark schwankende Blutzuckerwerte, bei Einsetzen der folgenden Läufigkeit, 6 Monate nach Diagnosestellung, Verschlechterung der diabetischen Stoffwechsellaage, Ovar-ect Hyster-ektomie (Pyometra), nach insgesamt siebenmonatiger Behandlung Tötung, keine Sektion.

D 11: Kleinpudel, Hündin, 5 Jahre alt, 9 kg

Vorbericht: Am 42. Tag der Trächtigkeit vorgestellt, Polydipsie bei gutem Allgemeinbefinden.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	192 mg%
Glucose im Harn:	neg.
Serumcholesterin:	384 mg%
alkalische Serumphosphatase:	17 KAE/ml

Seruminsulin: 22 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Tagesdosis an Depot-Insulin Hoechst innerhalb einer Woche von anfangs 15 IE auf 40 IE gesteigert, 5 lebende und 1 toter Welpen durch Kaiserschnitt entwickelt, nach der Operation Anstieg des Insulinbedarfs bis auf 280 IE pro Tag, jedoch 4 Wochen post operationem Insulinbedarf auf 5 IE pro Tag zurückgegangen, 8 Wochen post operationem kann die Insulintherapie abgesetzt werden, nach erneuter Läufigkeit wieder Diabetes mellitus, Ovar- et Hysterektomie (Pyometra) und post operationem im Verlaufe von 8 Monaten normale Blutzuckerwerte ohne Insulingabe.

D 12: Terrier-Spitz-Bastard, Hündin, 11 Jahre alt, 15 kg, adipös

Vorbericht: Letzte Läufigkeit 10 Wochen zurückliegend, Polydipsie, beiderseitige Linsentrübung.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 313 mg%

Serumcholesterin: 590 mg%

Seruminsulin: 23 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Blutzucker gleichmäßig einzustellen auf 10 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag, 7 Wochen nach Beginn der Behandlung Normoglykämie, kein Insulinbedarf, zu diesem Zeitpunkt Kastration, erneute Vorstellung 1 1/2 Jahre später, Normoglykämie ohne Insulin.

D 13: Airedale, Hündin, 11 Jahre alt, 46,3 kg, hochgradig adipös

Vorbericht: Hochgradige Lactation (Scheinträchtigkeit), keine Angaben über Zeitpunkt der letzten Läufigkeit.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 262 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: neg.

Serumcholesterin: 460 mg%

Seruminsulin: 23 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Ovar-et Hysterektomie (Pyometra), Tagesbedarf an Insulin: 30 - 40 IE Depot-Insulin Hoechst, bereits am dritten Tag nach der Operation nur noch Bedarf von 10 IE Insulin pro Tag bei Blutzuckerwerten um 100 mg%, nach einer Woche Absetzen der Insulintherapie, etwa 1 Jahr später ist der Patient an einem metastasierenden Mammacarcinom gestorben, keine Sektion.

D 14: Kleinpudel, Hündin, 10 Jahre alt, 11,5 kg, adipös

Vorbericht: 3 Wochen nach Beendigung der Läufigkeit, Polydipsie, beiderseitige leichte Linsentrübung.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 185 mg% (Crecelius-Seifert)

Glucose im Harn: pos.

Seruminsulin: 32 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Nach Gabe von 7 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag zunächst Absinken des Blutzuckerspiegels, Gewichtsabnahme, später Anstieg des Insulinbedarfs auf 25 IE pro Tag, nach 9 Monaten Kontrolluntersuchung: Nüchtern-Blutzucker-Werte schwanken um 100 mg% bei 25 IE Depot-Insulin Hoechst pro Tag, Patient wird jetzt mehr als 2 Jahre behandelt.

D 15: Bastard, Hündin, 9 Jahre alt, 10,8 kg

Vorbericht: Letzte Läufigkeit liegt 5 Wochen zurück, seit 1 Woche Polydipsie und Vomitus, seit 3 Tagen Futter verweigert.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 195 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: pos.

alkalische Serumphosphatase: 23 KAE/ml

Seruminsulin: 50 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Nach zweitägiger Insulinbehandlung Besserung des Allgemeinbefindens, keine erneute Vorstellung.

D 16: Langhaarteckel, Hündin, 11 Jahre alt

Vorbericht: Letzte Läufigkeit etwa 4 Wochen zurückliegend, seit 3 Tagen Inappetenz, Polydipsie, seit 2 Tagen Vomitus; da Erbrechen besonders nach Schneefressen aufgetreten, Gabe eines Antemetikums und eines Antibiotikums, am darauffolgenden Tag wird der Patient im komatösen Zustand gebracht.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 816 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: pos.

Komazylinder

Seruminsulin: 76 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Nach Gabe von 28 IE Alt-Insulin intravenös und 60 IE Depot-Insulin subcutan stirbt der Hund eine Stunde später.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Multiple knotenförmige Hyperplasien der Nebennierenrinden, hochgradige feintropfige Leberzellverfettung, hochgradige Verfettung der Hauptstückepithelien in den Nieren, albuminkörnige Herzmuskeldegeneration, Ganglienzelldegeneration in der Großhirnrinde und im Hirnstamm, peripankreatische Fettgewebse Nekrosen.

D 17: Cockerspaniel, Hündin, 9 Jahre alt, 16 kg

Vorbericht: Vorstellung wegen Polydipsie bei normalen Blutzuckerwerten, 4 Tage nach Beendigung der Läufigkeit Polydipsie bei einem Nüchtern-Blutzucker-Wert von 110 mg%, nach 4 Tagen Verschlechterung des Allgemeinbefindens.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 194 mg%

alkalische Serumphosphatase: 20 KAE/ml

Seruminsulin 125 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Beginn der Insulintherapie mit 20 IE Depot-Insulin Hoechst, 4 1/2 Monate nach der Diagnosestellung erneute Läufigkeit beendet, im Anschluß daran Anstieg des Insulinbedarfs bis auf 1.040 (!) IE pro Tag, 5 Monate nach Diagnosestellung Ovar-et Hysterektomie (Pyometra), danach Zurückgehen des Insulinbedarfs, 4 Wochen post operationem Normoglykämie ohne Insulinzufuhr, wiederholt Kontrolluntersuchungen bis zu 9 Monaten post operationem.

D 18: Tibet Terrier, Hündin, 11 Jahre alt, 7 kg, adipös

Vorbericht: Hündin war noch nie läufig, seit 3 Tagen Futter verweigert, Vomitus.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	462 mg%
Glucose im Harn:	pos.
Acetonkörper im Harn:	neg.
Serumcholesterin:	776 mg%
Serumharnstoff:	417 mg%
alkalische Serumphosphatase:	41 KAE/ml

Seruminsulin: 173 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Nach Gabe von 27 IE Depot-Insulin Hoechst zunächst Abfall des Blutzuckers auf 77 mg%, Blutzucker läßt sich in den darauffolgenden Tagen mit 30 IE Long-Insulin Hoechst nicht normalisieren, das Allgemeinbefinden verschlechtert sich derart (Bilirubinanstieg im Serum), daß der Hund eine Woche nach der Diagnosestellung getötet wird.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Hochgradige interstitielle Nephritis, Glomerulussklerose, tubuläre Nephrose und Calcinose der Nieren, Gastritis catarrhalis acuta, Enteritis haemorrhagica acuta, Pankreas makroskopisch unauffällig (histologisch versehentlich nicht untersucht), hochgradige Leberzellverfettung, Myodegeneratio cordis.

Katze, männlich, kastriert, 14 Jahre alt

Vorbericht: Abmagerung trotz Polyphagie, ausgeprägte Polydipsie.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	176 mg%
Glucose im Harn:	pos.
Acetonkörper im Harn:	pos.
Serumcholesterin:	329 mg%

Seruminsulin: 2 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Jeglicher Behandlungsversuch wird vom Besitzer abgelehnt, das Tier getötet.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Atrophie der Langerhansschen Inseln, zentrolobuläre Leberzellverfettung.

Tabelle 19

I M I bei 5 Rüden mit Diabetes mellitus

Nr.	Rasse	Gewicht (kg)	Alter (Jahre)	Blutzucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)
D 1	Zwergteckel	3,1	10	224	0
D 2	Kleinpudel	13,5	12	240	9
D 3	Rauhaar- Foxterrier	10,5	10	244	22
D 4	Kleinpudel	-	9	295	23
D 5	Pudel	-	11	269	63

Tabelle 20

I M I bei 13 Hündinnen mit Diabetes mellitus

Nr.	Rasse	Gewicht (kg)	Alter (Jahre)	Blutzucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)
D 6	Pudel	--	13	232	0
D 7	Spitz	--	9	257	0
D 8	Langhaar- teckel	--	8	202	4
D 9	Rauhhaar- teckel	10	10	281	10
D 10	Kleinpudel	11,5	14	262	18
D 11	Kleinpudel	9	5	192	22
D 12	Terrier-Spitz- Bastard	15	11	313	23
D 13	Airedale- terrier	46,3	11	262	23
D 14	Kleinpudel	11,5	10	185 ¹⁾	32
D 15	Bastard	10,8	9	195	50
D 16	Langhaar- teckel	--	11	816	76
D 17	Cockerspaniel	16	9	194	125
D 18	Tibetterrier	7	11	462	173

¹⁾ Crecelius-Seifert

8. IMI bei Hunden mit Hypercorticismus

Bei 7 Hunden mit Hypercorticismus wurden Serum-Insulin-Bestimmungen durchgeführt. Das Erscheinungsbild dieser Hunde ist gekennzeichnet durch diffuse Alopezie am Stamm, an den caudalen Anteilen der Hinterextremitäten, oft auch am Nasenrücken und an den Ohren bei sonst gut behaartem Kopf, Hyperpigmentation und in manchen Fällen federkielartige, verstopfte Talgdrüsenausführungsgänge, die der auffallend dünnen, unelastisch gewordenen Haut ein typisches Aussehen geben. Häufig haben diese Patienten einen stark ausgeprägten Hängebauch (bedingt durch Schwund der Bauchwandmuskulatur) sowie manchmal Atrophie der Temporalis- und der Hinterhandmuskulatur. Neben diesem typisch veränderten Habitus waren für die klinische Diagnose "Hypocorticismus" folgende klinische Befunde ausschlaggebend: eine erhebliche palpatorisch bzw. röntgenologisch festzustellende Lebervergrößerung, Eosinopenie, Lymphopenie, Hyperlipidämie, latenter oder manifester Diabetes mellitus. Nicht bei allen Patienten sind alle typischen Veränderungen ausgeprägt. Darüber hinaus konnte bei 3 Hunden (C 1, C 2, C 4) durch den Nachweis eines erhöhten Blutcortisolspiegels¹⁾ bzw. einer vermehrten Ausscheidung von freiem Cortisol im 24-Stunden-Harn die klinische Verdachtsdiagnose gesichert werden. Bei 2 weiteren Fällen (C 3 und C 6) steht das Ergebnis der Cortisolbestimmung noch aus. In 3 Fällen wurde die klinische Diagnose durch die pathologisch-anatomische Untersuchung bestätigt. Auf den folgenden Seiten werden die Fälle kurz erläutert.

1) Für die Cortisolbestimmungen danken wir Herrn Prof. Dr. Lörcher im Institut für Tierzucht und Tierernährung der Freien Universität Berlin.

C 1: Langhaarteckel, Rüde, (einseitiger Kryptorchide),

9 Jahre alt, 12 kg

Klinische Befunde:

Polydipsie bei anfangs normalem Blutzucker, schlechtes Allgemeinbefinden, helle Stimme, Atrophie der Temporalismuskulatur, kleine Hoden, Hepatomegalie (histologischer Befund: hochgradige degenerative Leberzellverfettung), Eosinopenie, Lymphopenie, Serumcholesterin: 578 mg%.

Krankheitsverlauf: 8 Wochen nach Auftreten der ersten Krankheiterscheinungen manifester Diabetes mellitus mit einem Blutzucker von 168 mg% und einem IMI-Wert von 51 μ E/ml Serum, zunächst keine Insulintherapie, 1 Woche später: Blutzucker 316 mg% und IMI-Wert von 26 μ E/ml, durch Behandlung mit 20 - 25 IE Long-Insulin pro Tag ist der erhöhte Blutzucker nicht zu beeinflussen, zunehmende Verschlechterung des Allgemeinbefindens, Absetzen der Insulintherapie, 2 Tage nach der letzten Insulin-Injektion gelangt der Hund in eine Hypoglykämie, die durch Dextrose-Injektion behoben werden kann, jedoch 2 Tage später erneut von einer Hypoglykämie gefolgt ist, der Hund wird auf Wunsch des Besitzers getötet, keine Sektion.

C 2: Teckel, Hündin, 12 Jahre alt, 9,5 kg, adipös

Klinische Befunde:

Symmetrische Alopezie am Stamm, Haut teilweise schwarz pigmentiert, früher normale Läufigkeiten, letzte Läufigkeit erst nach einjähriger Pause aufgetreten, vor 2 Wochen beendet, Polydipsie, starker Appetit,

Blutzucker: 71 mg%

Serumcholesterin: 243 mg%

Seruminsulin: 43 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Vom Besitzer werden weitere Untersuchungen sowie Behandlungsversuche abgelehnt und der Hund getötet, keine Sektion.

C 3: Kleinpudel, Rüde, 14 Jahre alt, 14,2 kg

Klinische Befunde:

Diffuse Alopezie, hochgradige Atrophie der Temporalismuskulatur, Hängebauch, Lordose, Polydipsie, palpatorisch und röntgenologisch Hepatomegalie,

Blutzucker: 62 mg%

Glucosetoleranz: herabgesetzt (s. Tab. 21)

Serumcholesterin: 426 mg%

Seruminsulin: 74 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Der Hund wird entlassen mit dem Hinweis, regelmäßig Blutzuckerkontrollen durchführen zu lassen, nach 5 Monaten ist der Hund plötzlich gestorben, keine Sektion.

C 4: Langhaarteckel, Rüde, 6 Jahre alt, 13 kg, adipös

Klinische Befunde:

Stellenweise stumpfes Haarkleid, Alopezie an Hals und Kruppe, Hängebauch, Atrophie der Temporalismuskulatur, mäßige Polydipsie, Hepatomegalie (histologischer Befund: herdförmige großtropfige Leberzellverfettung),

Blutzucker: 73 mg%

Glucosetoleranz: erheblich herabgesetzt (s. Tab. 22)

Eosinopenie

Serumcholesterin: 336 mg%

alkalische Serumphosphatase: 17 KAE/ml

Krankheitsverlauf: Nach 9 Monaten wieder Vorstellung wegen Verschlechterung des Zustandes, getötet.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Hypophyse erbsengroß, knotenförmige Hyperplasien der Nebennierenrinden, symmetrische Alopezie an Bauch und Brust, Adipositas, Hyperplasie der Epithelkörperchen, Erscheinungen der Osteoporose (besonders Rippen), Bimssteinlunge (wahrscheinlich Pneumocalcinosis), Leberverfettung, chronische interstitielle Herdnephritis, Pyelonephritis mit Papillennekrose, subakute katarrhalische Cystitis.

C 6: Langhaarteckel, Hündin, 9 Jahre alt, 12,6 kg, adipös

Klinische Befunde:

Haarkleid unauffällig, letzte Läufigkeit vor 6 Wochen beendet, Lactation (Scheinträchtigkeit), Hepatomegalie, Diabetes mellitus,

Blutzucker: 391 mg%

Glucose im Harn: pos.

Acetonkörper im Harn: pos.

Serumcholesterin: 391 mg%

Seruminsulin: 98 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Anfangs Hypoglykämie nach Gabe von 20 IE Depot-Insulin, dann mit 10 IE pro Tag auf Blutzuckerwerte um 60 mg% gut einzustellen. Patient in der Klinik nicht wieder vorgestellt, laut Auskunft des Besitzers (6 Monate später) lebt der Hund noch, hat inzwischen eine Normoglykämie und erhält seit 4 Wochen kein Insulin mehr, erneute Läufigkeit liegt 3 Wochen zurück.

C 7: Schäferhund, Hündin, 13 Jahre alt, leicht adipös

Klinische Befunde:

Schlechtes Allgemeinbefinden, Apathie, 4 Wochen nach Beendigung der Läufigkeit: Lactation (Scheinträchtigkeit), Vomitus, Polydips: zur Feststellung des Insulinbedarfs in der Klinik stationär aufgenommen,

Blutzucker: 720 mg%

Eosinopenie

Lymphopenie

Serumcholesterin: 468 mg%

Serumharnstoff: 129 mg%

alkalische Serumphosphatase: 40 KAE/ml

Serumbilirubin: 1,5 mg%

Seruminsulin: 120 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Schnelle Verschlechterung des Allgemeinbefindens, zunehmende Harnstoffretention, Blutzucker auch nach intravenösen Gaben von Insulin nicht zu normalisieren, Patient in der Klinik gestorben.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Hochgradige eitrige Pyelonephritis mit Papillennekrosen, Pankreas makroskopisch unauffällig (Autolyse), knotenförmige Hyperplasien der Nebennierenrinden, besonders links, Leberzelldegeneration mit Verfettung, seröse Endometritis.

Die Ergebnisse der Insulinbestimmungen bei den Patienten mit Hypercorticismus sind in der Tabelle 2¹ zusammengestellt. Bei den Patienten C 3 und C 4 konnten orale Glucosebelastungen durchgeführt werden, die - wie schon erwähnt - eine herabgesetzte Toleranz erkennen lassen. Hervorzuheben ist der gegenüber den bei normalen Glucose-Toleranz-Tests gemessene, erhebliche Insulinenstieg.

Tabelle 21

Übersicht über die IMI-Werte bei Hunden
mit Hypercorticismus

Nr.	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Serum- insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
C 1	Langhaar- teckel	m	9	12	168 316	51 26	1 Woche später
C 2	Teckel	w	12	9,5	71	43	
C 3	Klein- pudel	m	14	14,5	62	74	Glucose- belastung s. Tab. 22
C 4	Langhaar- teckel	m	6	13	73	74	Glucose- belastung s. Tab. 23
C 5	Schäfer- hund	w	9	-	251	86	
C 6	Langhaar- teckel	w	9	12,6	391	98	
C 7	Schäfer- hund	w	13	-	720	120	Serum 2 Jahre und 4 Monate tiefgefroren aufbewahrt

Krankheitsverlauf: Schnelle Verschlechterung des Allgemeinbefindens, zunehmende Harnstoffretention, Blutzucker auch nach intravenösen Gaben von Insulin nicht zu normalisieren, Patient in der Klinik gestorben.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Hochgradige eitrige Pyelonephritis mit Papillennekrosen, Pankreas makroskopisch unauffällig (Autolyse), knotenförmige Hyperplasien der Nebennierenrinden, besonders links, Leberzelldegeneration mit Verfettung, seröse Endometritis.

Die Ergebnisse der Insulinbestimmungen bei den Patienten mit Hypercorticismus sind in der Tabelle 2¹ zusammengestellt. Bei den Patienten C 3 und C 4 konnten orale Glucosebelastungen durchgeführt werden, die - wie schon erwähnt - eine herabgesetzte Toleranz erkennen lassen. Hervorzuheben ist der gegenüber den bei normalen Glucose-Toleranz-Tests gemessene, erhebliche Insulinenstieg.

Tabelle 21

Übersicht über die IMI-Werte bei Hunden
mit Hypercorticismus

Nr.	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Serum- insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
C 1	Langhaar- teckel	m	9	12	168 316	51 26	1 Woche später
C 2	Teckel	w	12	9,5	71	43	
C 3	Klein- pudel	m	14	14,5	62	74	Glucose- belastung s. Tab. 22
C 4	Langhaar- teckel	m	6	13	73	74	Glucose- belastung s. Tab. 23
C 5	Schäfer- hund	w	9	-	251	86	
C 6	Langhaar- teckel	w	9	12,6	391	98	
C 7	Schäfer- hund	w	13	-	720	120	Serum 2 Jahre und 4 Monate tiefgefroren aufbewahrt

Tabelle 22:

Glucosebelastung:

C 3: Kleinpudel, Rüde, 14 Jahre alt, 14,2 kg

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	62	89	98	93	82	66	70
Insulin uE/ml	74	108	174	92	71	76	71

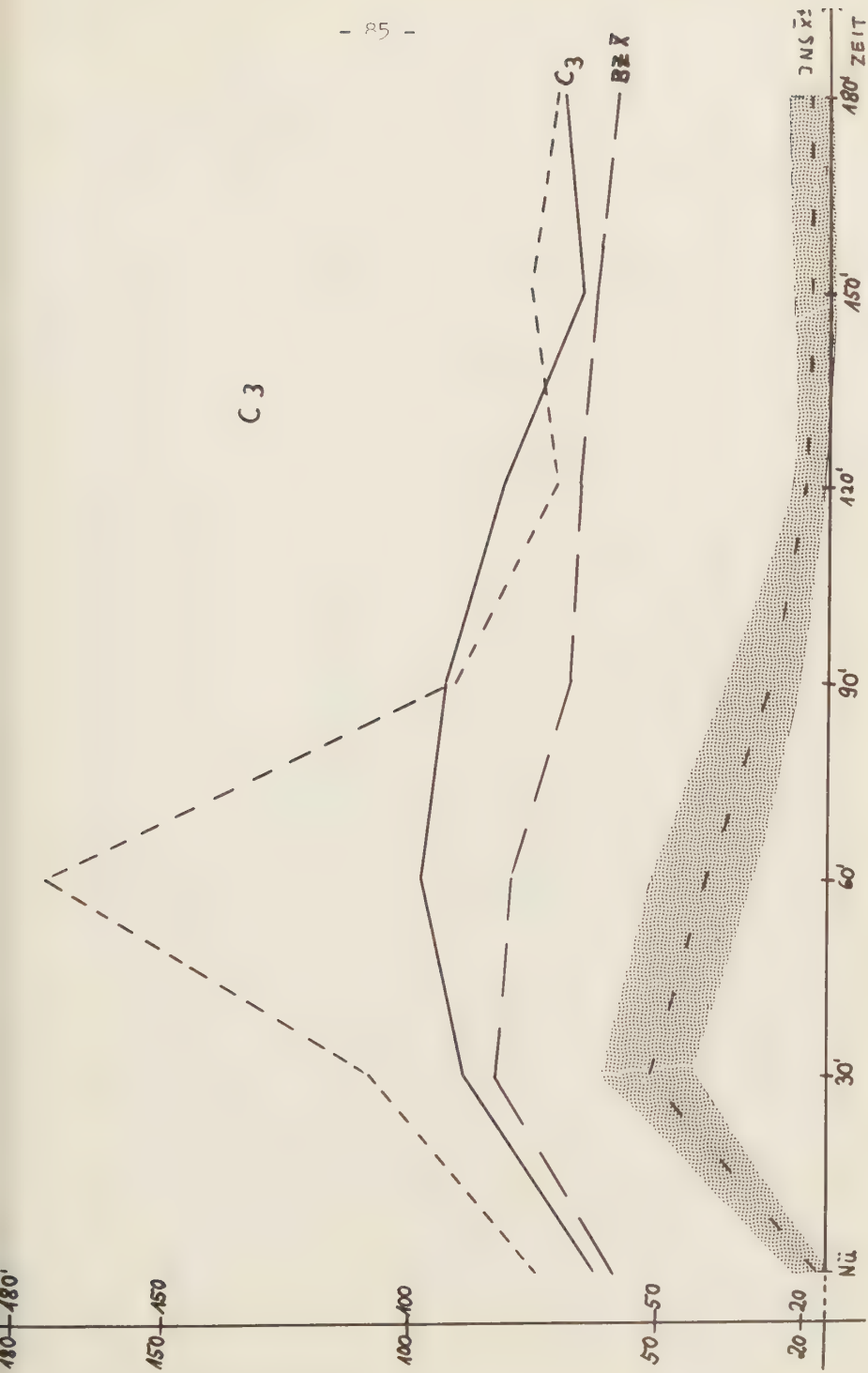
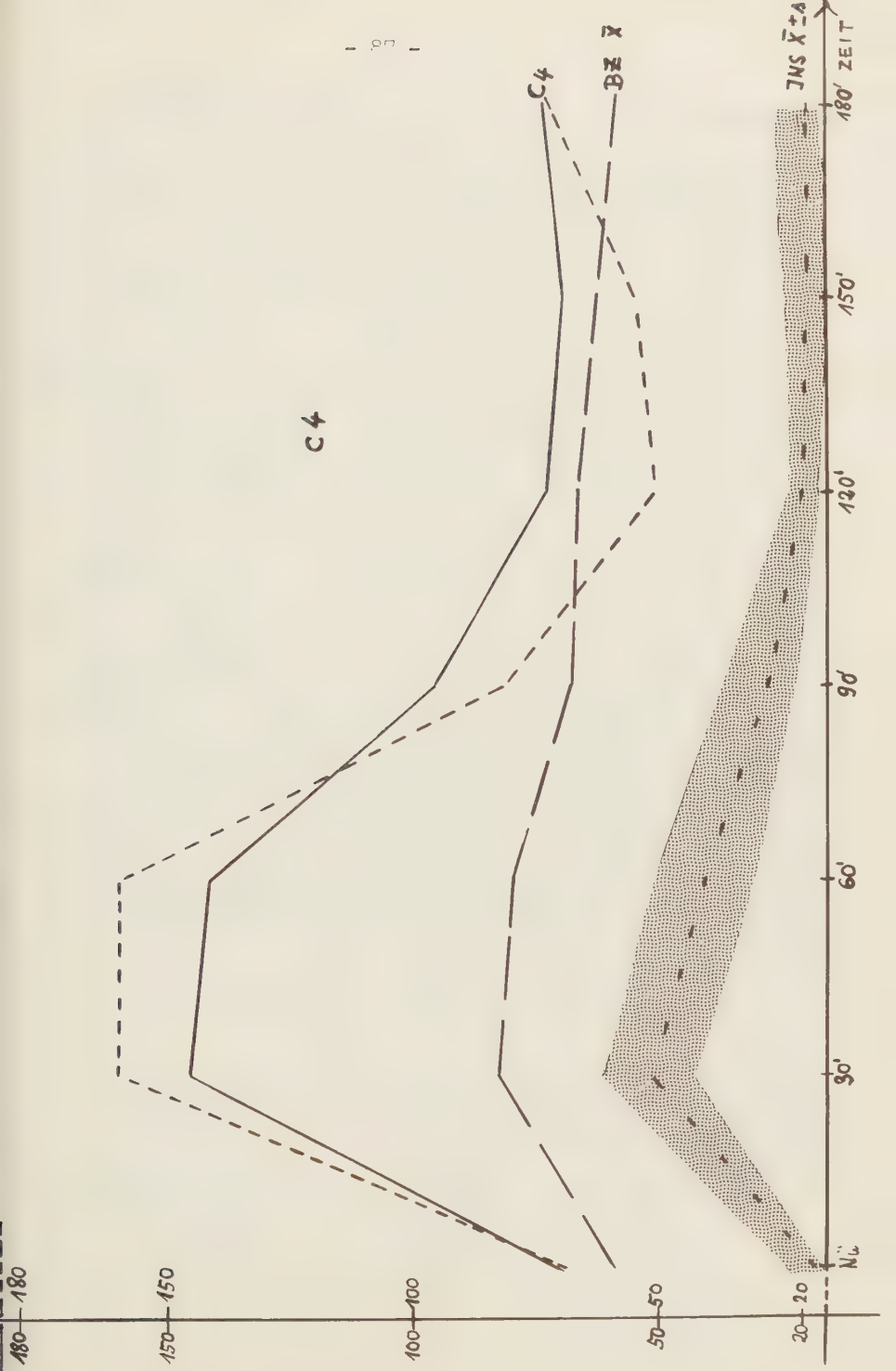


Tabelle 23:

Glucosebelastung:

C 4: Lenghaarteckel, Rüde, 6 Jahre alt 13 kg

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	70	146	142	96	73	70	74
Insulin /uE/ml	69	160	160	82	51	55	73



9. IMI bei Hunden mit exkretorischer Pankreasinsuffizienz

Für die klinische Diagnose sind der äußere Zustand des Patienten und die Anamnese richtungweisend. In der Regel läßt schon die enorme Futteraufnahme bei gleichzeitig hochgradiger Abmagerung eine Störung der Verdauungsleistung vermuten. Bereits bei der makroskopischen Untersuchung werden Meteorismus, häufiger Absatz von pastös bis breiigem, hellem Kot mit makroskopisch erkennbaren unverdauten Futterbestandteilen und zeitweilig hochgradige Diarrhoe beobachtet. Teilweise wird mit dem Kot Fett ausgeschieden, das mikroskopisch oder mit Lipitesmo-Papier ^{WZ 1)} nachgewiesen werden kann; in vielen Fällen wird das Fett gesondert als Lache abgesetzt, oder die Patienten haben an der Schwanzunterseite und am After ein fettig verschmiertes Fell. Weitere typische Befunde sind: Hypcholesterinämie unterschiedlichen Grades, hochgradige Stearrhoe sowie Mangel an Trypsin im Kot (negative Film-²⁾ und Gel-³⁾ Testergebnisse). In einem Fall (P 6) wurde neben einer Maldigestion auch eine Malabsorption mit Hilfe der Xyloseausscheidung⁴⁾ nachgewiesen. Alle Patienten, die mit einer exkretorischen Pankreasinsuffizienz vorgestellt wurden, zeigten mit Ausnahme von P 7 (Tab. 27) und P 1 (Tab. 25) keine Anzeichen eines gestörten Kohlenhydratstoffwechsels (normaler Nüchtern-Blutzucker-Gehalt und normaler Verlauf des oralen Glucose-Toleranz-Tests). Die Bestimmung des Insulingehaltes war deshalb von Interesse, weil zur Debatte stand, ob bei derartigen Patienten neben einer Hypoplasie des exokrinen Pankreas zugleich auch eine Insuffizienz der β -Zellen nachzuweisen war. Die Fälle werden auf den folgenden Seiten kurz beschrieben und die Befunde in Tabelle 24 zusammengefaßt.

1) Macherey & Nagel, Düren

2) 3) Kaneko (15)

4) Kruiningen (19)

P 1: Schäferhund, Hündin, 4 Jahre alt, 27 kg

Vorbericht: Seit 3 Monaten Diarrhoe mit Gewichtsverlust.

Klinische Befunde:

Blutzucker: zu Beginn der Untersuchungen im Normalbereich

Glucose-Toleranz-Test: normaler Verlauf

Serumcholesterin: 170 mg%

Lipitesmo: pos.

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test: wiederholt neg.

Trypsin-Gel-Test: wiederholt neg.

mikroskopisch:

Fett: massenhaft

Stärke: neg.

Muskelfasern: vereinzelt

Seruminsulin: 16 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Relativ gutes Ansprechen auf die Behandlung, der Hund zeigt Gewichtszunahme und nur zeitweilig Diarrhoe, die aber unter eine gewisse Kontrolle gebracht werden kann; 5 Monate nach Behandlungsbeginn wird ein Nüchtern-Blutzucker-Gehalt von 72 mg% und ein IMI-Wert von 6 μ E/ml Serum gemessen, der zu diesem Zeitpunkt durchgeführte Glucose-Toleranz-Test ergibt eine herabgesetzte Glucosetoleranz (s. Tab. 25); seit über einem Jahr ist der Patient in klinischer Beobachtung und bisher ohne manifesten Diabetes mellitus.

P 2: Schäferhund, Hündin, circa 1 Jahr alt, 33 kg

Vorbericht: Im Alter von knapp 1 Jahr erstmals aufgetretene Diarrhoe, Kot unterschiedlich dick- und dünnbreiig, Koprophagie.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 76 mg%

Glucose-Toleranz-Test: normaler Verlauf

Serumcholesterin: 100 mg%

Gerinnungsvalenz nach Quick: 42%

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test: neg.

Trypsin-Gel-Test: neg.

mikroskopisch:

Fett: massenhaft

Stärke: pos.

Muskelfasern glatte und quergestreifte: pos.

Seruminsulin: 12 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Keine Besserung des Zustandes, Gewichtsabnahme, 5 Wochen nach der Erstvorstellung Blutzucker 68 mg% und IMI-Wert von 19 μ E/ml Serum, Tötung auf Wunsch des Besitzers.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Hochgradige Hypoplasie des exokrinen Pankreasgewebes (bezw. der Drüsenendstücke), geringgradige diffuse Leberzellverfettung.

P 3: Boxer, Rüde, 9 Monate alt, 13 kg

Vorbericht: Chronische Diarrhoe bei sehr hellem breiigem Kot, Abmagerung trotz Polyphagie, Exsikkose.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 63 mg%

Serumcholesterin: 113 mg%

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test: neg.

Trypsin-Gel-Test: neg.

mikroskopisch:

Fett: pos.

Stärke: pos.

Muskelfasern: neg.

Seruminsulin: 12 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Wesentliche Besserung durch Diät und Therapie, Gewichtszunahme bis auf 21 kg, Kotbeschaffenheit unverändert, 5 1/2 Wochen nach der Erstvorstellung normaler Verlauf der Glucosebelastung (s. Tab. 26), weitere 13 Monate später lebt der Hund noch, Nachuntersuchung konnte nicht erfolgen, da der Hund nicht wieder vorgestellt wurde.

P 4: Schäferhund, Rüde, 7 Jahre alt, 32 kg

Vorbericht: Im Alter von 2 Jahren erstmals vorgestellt, sehr mager trotz reichlicher Fütterung.

Klinische Befunde: (zum Zeitpunkt der Insulinbestimmung im Alter von 7 Jahren)

Blutzucker: 45 mg%

Serumcholesterin: 107 mg%

Gerinnungsvalenz nach Quick: 23%

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test: pos.

Trypsin-Gel-Test: pos.

Seruminsulin: 8 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Hund ist nach wie vor mager, Kotbeschaffenheit bei besonderer Fütterung nahezu normal, selten Diarrhoe.

P 5: Schäferhund, Rüde, 3 Jahre alt, 34,8 kg

Vorbericht: Trotz reichlicher Fütterung Gewichtsabnahme von 34 auf 30,9 kg, auffälliger Meteorismus, achtmaliger Kotabsatz pro Tag.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 61 mg%

Glucosetoleranz: herabgesetzt

Serumcholesterin: 112 mg%

Gerinnungsvalenz nach Quick: 42%

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test:	wiederholt neg.
Trypsin-Gel-Test:	wiederholt neg.
Lipitesmo:	pos.

mikroskopisch:

Fett:	massenhaft
Stärke:	massenhaft
Muskelfasern:	massenhaft

Seruminsulin: 8 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Bei Wiederholungsuntersuchung nach 2 1/2 Monaten 6 μ E/ml Serum, Kotbeschaffenheit und Häufigkeit des Kotabsatzes durch Diät und Medikamente zu bessern jedoch nicht zu normalisieren, ist seit 1 1/2 Jahren in ständiger klinischer Beobachtung.

P 6: Schäferhund, Rüde, 5 Jahre alt

Vorbericht: Seit längerer Zeit Diarrhoe, trotz guten Appetits Gewichtsverlust von 36 bis auf 30 kg während 3 Monaten, Koprophagie.

Klinische Befunde:

Blutzucker:	55 mg%
Gesamtcholesterin:	68 mg%
Gerinnungswert nach Quick:	27%

Mangelhafte Resorption für Glucose (Glucose-Toleranz-Test) und Xylose nachgewiesen.

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test:	wiederholt neg.
Trypsin-Gel-Test:	wiederholt neg.

mikroskopisch:

Fett:	massenhaft
Stärke:	massenhaft
Muskelfasern:	vereinzelt

Seruminsulin: 4 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Jeglicher Therapieversuch bleibt erfolglos, Tötung 5 Monate nach der Erstuntersuchung.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Hochgradige Hypoplasie des exokrinen Pankreasgewebes (bzw. der Drüsenendstücke), Pankreasinseln histologisch nicht nachzuweisen (Autolyse), geringgradige periphere Leberzellverfettung.

P 7: Boxer, Rüde, 5 Jahre alt, 20 kg

Vorbericht: Im Alter von 10 Wochen zum erstenmal vorgestellt wegen Magerkeit, zu der Zeit schaumiger Durchfall, Fett wird gesondert abgesetzt.

Klinische Befunde:

Blutzucker: 85 mg%

Gerinnungswert nach Quick: 36%

Kotbefund:

Trypsin-Film-Test: neg.

Trypsin-Gel-Test: pos.

mikroskopisch:

Fett: pos.

Stärke: massenhaft

Muskelfasern: vereinzelt

Seruminsulin: 1 μ E/ml

Krankheitsverlauf: Während 5 Jahren wiederholte klinische Untersuchungen, u.z. wurde 2 Monate nach der Erstvorstellung mit Hilfe einer Glucosebelastung eine herabgesetzte Glucosetoleranz festgestellt, ein weiteres Jahr später war die Glucosetoleranz stark herabgesetzt (latenter Diabetes), der Hund wurde schließlich wegen einer schweren Nierenerkrankung mit Polyurie und Polydipsie 5 Jahre nach der Erstvorstellung auf Wunsch des Besitzers getötet, die Insulinbestimmung und die dritte Glucosebelastung (s. Tab. 27) wurden wenige Tage vor dem Tode durchgeführt.

Pathologisch-anatomische Diagnosen:

Beidseitige chronisch-eitrige Pyelonephritis mit Papillennekrose und Abszessen im Nierenmark, Cystitis follicularis, multiple knotenförmige, wechselnd glykogen- bzw. lipidreiche Zellregenerate in der Leber, hochgradige Hypoplasie des exokrinen Pankreasgewebes.

Die bei den 7 Patienten mit exkretorischer Pankreasinsuffizienz gefundenen IMI-Werte lagen zwar im Normalbereich, waren aber doch auffallend niedrig, wenn man bedenkt, daß bei den normalen Hunden nur 19% der Nüchternwerte im Bereich von 0 - 10 μ E/ml liegen, dagegen 43% der Werte über 20 μ E/ml. Von den 3 Fällen, bei denen eine Glucosebelastung durchgeführt wurde (P 1, P 3, P 7) ist im Hinblick auf das Verhalten des Seruminsulins der Fall P 1 (Tab. 25) hervorzuheben, bei dem zwar ein deutlicher Anstieg der Blutglucose erfolgte, der dem Blutzuckeranstieg gemäß zu erwartende Insulinanstieg aber ausblieb.

Tabelle 24

Übersicht über die I M I - Werte bei Hunden
mit exkretorischer Pankreasinsuffizienz

Nr.	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Serum- insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
P 1	Schäfer- hund	w	4	27	norm.	16 6	Glucosebe- lastung 5 Monate später s. Tab.25
P 2	Schäfer- hund	w	1	33	76	12	normaler Glucose- Toleranz- Test
P 3	Boxer	m	3/4	13	63	12 16	Glucosebe- lastung 6 Wochen später s. Tab.26
P 4	Schäfer- hund	m	7	32	45	8	keine Glu- cosebela- stung
P 5	Schäfer- hund	m	3	34	61	8 6	2 1/2 Mona- te später
P 6	Schäfer- hund	m	5	30	55	4	
P 7	Boxer	m	5	20	85 88	1 0	1 Tag spä- ter Glucose- belastung s. Tab.27

Tabelle 25:

Glucosebelastung:

P 1: Schäferhund, Hündin, 4 Jahre alt, 27 kg

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	72	109	144	134	79	89	72
Insulin µE/ml	6	13	24	18	10	0	0

A

300-150

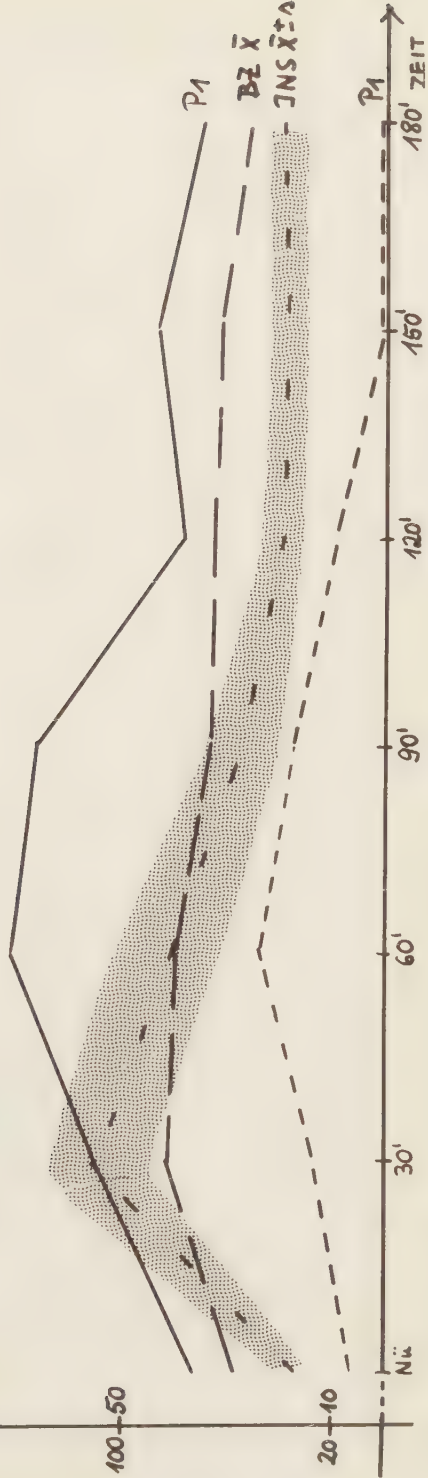
200-100

100-50

20-10

P₁

- 97 -



P₁

BZ $\bar{x}$
JNS $\bar{x} \pm \Delta$

180' ZEIT

150'

120'

90'

60'

30'

Nü

Tabelle 26:

Glucosebelastung:

P 3: Boxer, Rüde, 9 Monate, 13 kg

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	75	126	85	74	69	65	65
Insulin μE/ml	16	101	24	27	24	30	21

ZUCKER
mg %

300—150

200—100

100—50

20—10

P_3

- 99 -

P_3
 $B \bar{x}$
 P_3

$\text{JNS } \bar{x} \pm 4$

Nü

30'

60'

90'

120'

150'

180' ZEIT

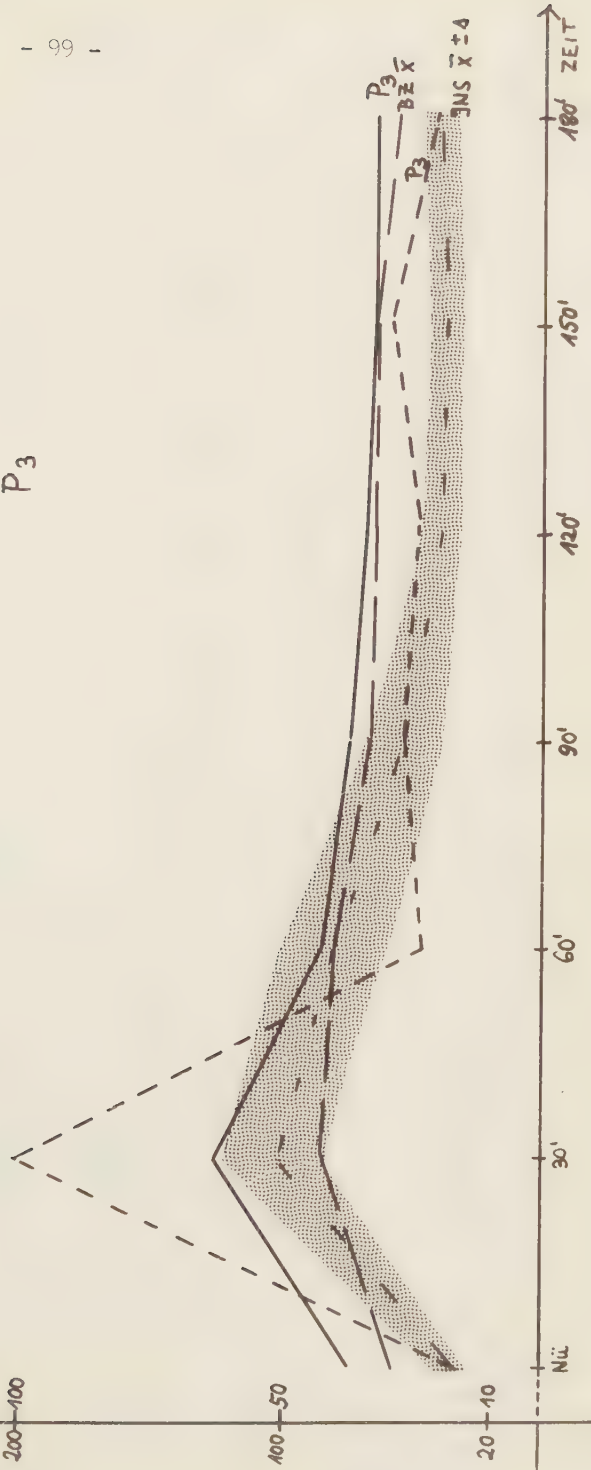


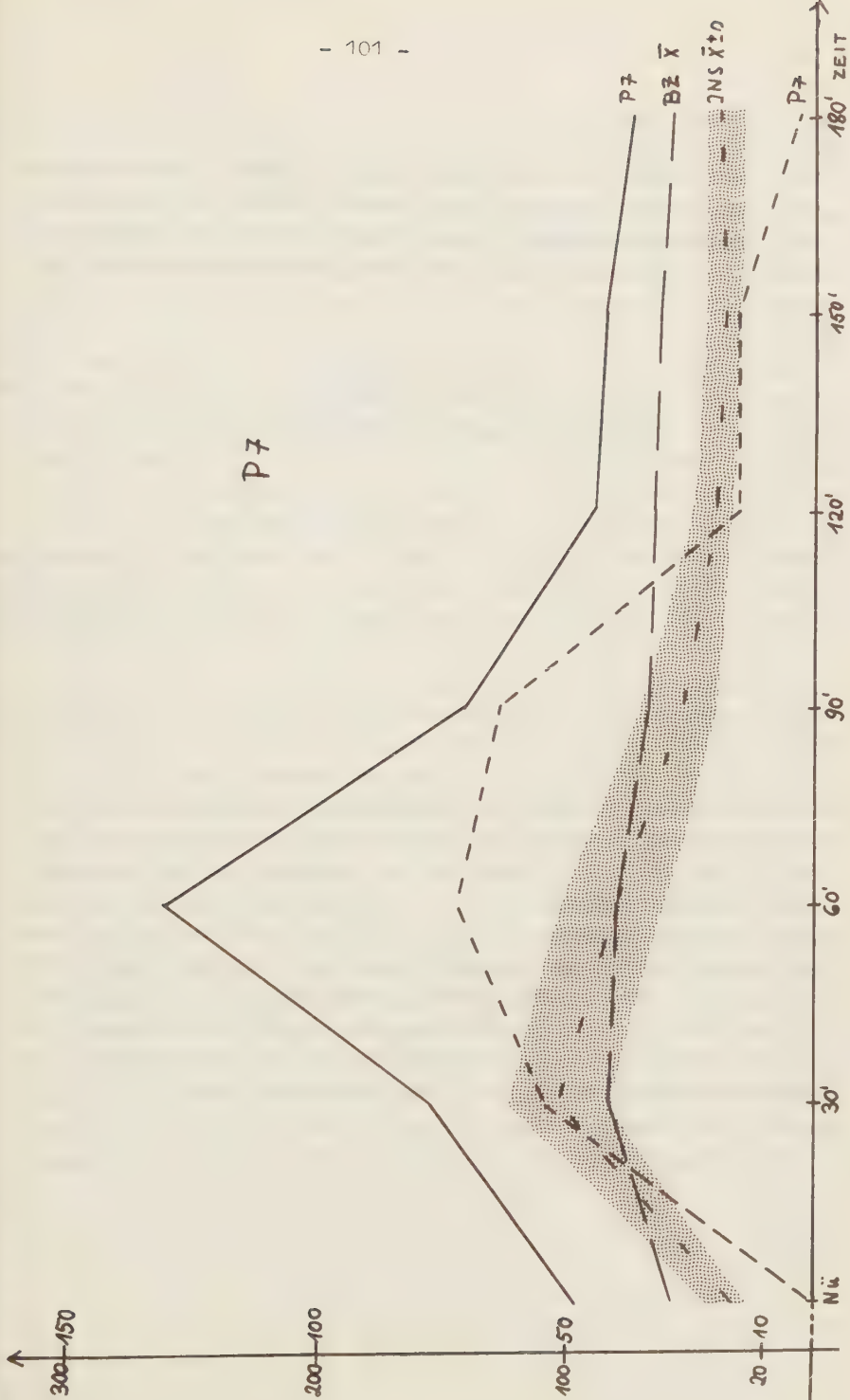
Tabelle 27:

Glucosebelastung:

P 7: Boxer, Rüde, 5 Jahre alt, 20 kg

	Nü	30'	60'	90'	120'	150'	180'
Blutzucker mg%	88	154	262	142	90	86	75
Insulin u E/ml	0	54	72	64	16	16	4

P7



10. IMI bei Hunden mit Adipositas

Da bei der Adipositas des Menschen höhere Insulinspiegel gemessen werden als bei Menschen mit Normalgewicht (15, 36), haben wir bei 3 extrem adipösen Hunden das IMI im Serum bestimmt. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle 28 zusammengestellt.

Tabelle 28:

Name	Rasse	Ge- schlecht	Alter (Jahre)	Gewicht (kg)	Blut- zucker (mg%)	Insulin (μ E/ml)	Anmerkungen
A 1	Schäfer- hund	m	6	72,1	65	65	
A 2	Klein- pudel	w.k.	9	19	79	68	Kastration vor 1 Jahr, zu der Zeit schon Adipo- sitas 12 kg
A 3	Klein- pudel- bastard	w	6	33	71	94	seit 14 Mo- naten nicht mehr läufig

Im Fall A 1 ist auf Grund der Aussagen der Besitzer zu vermuten, daß die Adipositas auf eine übermäßige Nahrungszufuhr zurückzuführen ist. Im Fall A 3 war anfangs auch, vor allem wegen der ausbleibenden Läufigkeiten, eine endokrine Störung als Ursache der Adipositas vermutet worden. Bei der klinischen Untersuchung wurde eine Hypercholesterinämie festgestellt, eine Hypothyreose war jedoch durch normale Serum-Thyroxin-Werte auszuschließen. Ein in diesem Fall durchgeführter oraler Glucose-Toleranz-Test verlief normal. Weder der Habitus des Tieres noch unsere klinischen Befunde ließen an ein Cushing-Syndrom denken.

IV. Diskussion:

Der Nachweis von radioimmunologisch meßbarem Insulin im Serum von Hunden und einigen Katzen wurde bei den vorliegenden Untersuchungen mit dem Radioimmunbesteck der Farbwerke Hoechst AG geführt. Dieses Verfahren ist für den spezifischen Insulinnachweis beim Menschen und bei kleinen Versuchstieren entwickelt worden.

Bei den von uns durchgeführten Insulinbestimmungen fällt der hohe methodische Fehler von 33% auf. Deshalb soll hier, bevor die Untersuchungsergebnisse diskutiert werden, darauf eingegangen werden.

Wiederholungsbestimmungen verschiedener Seren, bei denen zu verschiedenen Zeitpunkten nahezu gleiche Insulinwerte bestimmt werden konnten, sprechen dafür, daß am Zustandekommen des methodischen Fehlers nicht so sehr Zufallsfehler, sondern eher systematische Fehler beteiligt sind. Das wird weiterhin aus Verlaufsuntersuchungen deutlich.

Als Ursache für die Höhe des methodischen Fehlers können die Pipetten, die Inkubationstemperatur sowie das Adsorbens in Betracht gezogen werden. Es wurde mit drei verschiedenen Pipetten gearbeitet. Aus arbeitstechnischen Gründen haben wir für den Puffer eine nicht eichfähige Pipette à 0,8 ml anfertigen lassen, ferner wurden eichfähige Pipetten und die halbautomatischen Eppendorf-Mikroliter-Pipetten verwendet.

Die Inkubation erfolgte, wie in der Arbeitsanweisung vermerkt, bei "Raumtemperatur". Wir haben die Insulinbestimmungen immer in den gleichen automatisch klimatisierten Räumen durchgeführt. Trotzdem wurden innerhalb eines Tages bzw. einer Nacht starke Temperaturschwankungen um mehrere Grade Celsius beobachtet.

Als Adsorbens wurde Cellulose vor allem deshalb gewählt, weil sie, wie schon ausgeführt, nach dem Zentrifugieren besser sedimentiert und dadurch der Überstand leichter quantitativ zu entnehmen ist. Es ist denkbar, daß in der Aufbereitung der Cellulose,

die mehrere Arbeitsgänge erfordert, Fehlerquellen liegen. Präzise Anweisungen zur Vorbereitung der Cellulose sind der Arbeitsanleitung zum Radioimmunbesteck nicht zu entnehmen.

Ein Vergleich des von mir ermittelten methodischen Fehlers mit den bisher üblichen biologischen Nachweisverfahren erübrigt sich, denn diese sind bekannt für ihre äußerst geringe Spezifität und Genauigkeit. Andererseits habe ich keine Angaben anderer Autoren, die mit im Handel befindlichen Radioimmunbestecks unter k l i n i s c h e n B e d i n g u n g e n gearbeitet haben, bekommen können. Trotz des hohen methodischen Fehlers ist es interessant festzustellen, daß die Ergebnisse anderer Autoren, die immunologisch Insulin beim Hund bestimmt haben, gut mit den eigenen übereinstimmen (s. Tab. 29).

Die von uns an 71 klinisch gesund erscheinenden Hunden ermittelten Werte für IMI im Serum liegen bei Rüden ($n = 42$) zwischen 2 und 50 $\mu\text{E/ml}$ und bei Hündinnen ($n = 29$) zwischen 4 und 50 $\mu\text{E/ml}$. Diese relativ große Schwankungsbreite ist auch von anderen Autoren festgestellt worden (1, 8, 9, 22). Bisher liegen keine Ergebnisse vor, die an einem, bezüglich Rasse, Geschlecht, Alter oder Haltungsbedingungen homogenen Material erhoben worden sind, denn alle bisherigen Mitteilungen beziehen sich auf Untersuchungen an sogenannten Versuchshunden, die - soweit mitgeteilt - Beagle oder Bastarde waren. Unter den in Tabelle 29 genannten Autoren hat als einziger Teunissen (44) seine Untersuchungen an klinischen Fällen durchgeführt.

Unsere eigenen, unter dem Gesichtspunkt eines möglichen Rasseninflusses durchgeführten Untersuchungen, ergaben keine entsprechenden Hinweise. Allerdings ist hier gleich einzuschränken, daß sich ein statistischer Vergleich zwischen den drei untersuchten Rassen - Schäferhunde, Pudel, Teckel - wegen der sehr ungleichen Gruppenbesetzung verbietet. Die von mir gefundene Schwankungsbreite für immunologisch meßbares Seruminsulin ist in gleicher Weise bei Rüden wie auch bei Hündinnen vorhanden. Bei Betrachtung der Zahlen fällt aber auf, daß bei den Hündinnen eine größere Anzahl höherer Werte anzutreffen ist als bei den Rüden (s. Tab. 1-3). Der Eindruck, daß Hündinnen zu höheren Werten tendieren, läßt

Tabelle 29

Immunologisch meßbares Insulin
im peripheren Blut bei normalen Hunden

Autor	Anzahl der Untersuchungen	untersuchte Körperflüssigkeit	Insulin (/uE/ml)	Methode	Literaturstelle
Altszuler	?	Plasma	5 - 40 (18 ± 1,3)	Yalow u. Berson	1
Blackard	5	Plasma	- 50	Yalow u. Berson modifiziert	3
Capen	3	?	12 - 17	?	5
Gärtner	12 ♀	Serum	1-10-30	Melani et al.	8
Goetz	14	Plasma	40-65	Skom u. Talmage	9
Meade	?	Serum	6-22	Yalow u. Berson modifiziert	22
Pfeiffer	6	Serum	16	eigenes Verfahren	
Schöffling	18	Serum	21,6 ± 2,5	Yalow u. Berson modifiziert	38
Teunissen	4	Plasma	9 - 17	Methode unbekannt	40

sich leider wegen der ungleichen und relativ kleinen Kollektive statistisch nicht prüfen. Hier wären weitere Untersuchungen nötig, wobei auch die Frage geprüft werden müßte, ob Zusammenhänge bestehen zwischen der Zyklusphase und der Serum-Insulin-Konzentration. Ein solcher Zusammenhang erscheint möglich, denn Gärtner (9) hat bei der Hündin in Abhängigkeit von der ovarialen Funktion Änderungen des Kohlenhydratstoffwechsels festgestellt. In gleiche Richtung weist die klinische Beobachtung, daß in vielen Fällen beim Hund ein Diabetes mellitus im zeitlichen Zusammenhang mit der Brunst auftritt.

Vielleicht wäre der Schwankungsbereich meiner Untersuchungsergebnisse bei beiden Geschlechtern weniger groß, wenn es gelungen wäre, ein im Hinblick auf die Kondition noch homogeneres Material zu bekommen. Es war schwierig, Hunde mit guter Kondition zu finden. Dies trifft besonders für die Gruppe der Teckelrüden zu. Diese Schwierigkeit wird auch noch dadurch unterstrichen, daß gerade Teckel zu den häufig gehaltenen Hunderassen in Berlin zählen und das diesen Untersuchungen zugrundeliegende Material in einem Zeitraum von Dezember 1968 bis Juli 1970 gesammelt worden ist.

Um einen Begriff davon zu bekommen, ob es schon beim einzelnen Individuum zu großen Schwankungen der Serum-Insulin-Konzentration kommt, wurden sogenannte Tagesprofile (s. Tab. 5 - 9) erstellt. Dabei fällt auf, daß im Unterschied zu den relativ gleichbleibenden Blutzuckerwerten¹⁾ Schwankungen des immunologisch meßbaren Insulins bei allen untersuchten Hunden auftraten. Die Spanne betrug im Minimum 10 μ E/ml und im Maximum 28 μ E/ml und ist bei 2 Hunden ("Bärbel" Tab. 5 und "Jutta" Tab. 7) durch den isolierten Anstieg des Seruminsulins zwischen 16 und 17 Uhr bedingt. Dies ist die Fütterungszeit, an die unsere klinikeigenen Hunde zeitlebens gewöhnt sind, so daß wir vermuten, daß es sich hier um ein reflektorisch ausgelöstes Geschehen gehandelt hat.

Die Ergebnisse der Glucosebelastungen stimmen gut überein mit denen von Teunissen (44), die er bei gleicher Technik des Glucose-Toleranz-Tests an 4 normalen Hunden erzielte.

1) Bei Betrachtung der graphischen Darstellung ist der groß gewählte Maßstab für die Blutzuckerwerte zu beachten.

Die Ergänzung des Glucose-Toleranz-Tests durch gleichzeitige Insulinbestimmungen scheint uns der einmaligen Glucose- und Insulinbestimmung diagnostisch überlegen zu sein. Man erhält so nicht nur eine Aussage über den momentanen Serum-Insulin-Gehalt, sondern über sein Verhalten nach Aufnahme von Glucose. Es fällt z.B. auf, daß einer der Cushing-Patienten (C 3, s. Tab. 22) beim Glucose-Toleranz-Test zwar eine herabgesetzte Glucosetoleranz hat, die aber nicht besonders stark ausgeprägt ist, hingegen einen sehr starken Anstieg des immunologisch meßbaren Insulins zeigt. Im zweiten von uns untersuchten Fall (C 4, s. Tab. 23) entspricht der Testverlauf den Erwartungen, indem hohe Glucosekonzentrationen mit hohen IMI-Werten einhergehen. Da Teunissen (44) bei zwei in derselben Weise untersuchten Cushing-Hunden die gleichen Beobachtungen machte, glauben wir, daß dieses verschiedene Verhalten bei unseren Patienten kein Zufall gewesen ist.

Bei den Hunden mit exkretorischer Pankreasinsuffizienz ist beim oralen Glucose-Toleranz-Test in einem Fall (P 1, s. Tab. 25) auffallend gewesen, daß trotz des leicht über der mittleren Norm liegenden Blutzuckeranstiegs die Insulinkurve nur sehr flach verläuft, so daß die Frage auftaucht, ob daraus eine β -Zellen-Insuffizienz abzuleiten ist. Es ist aber denkbar, daß bei solchen Patienten auch andere Faktoren für den geringen peripheren Insulinanstieg unter der oralen Glucosebelastung verantwortlich sind: z.B. eine Beeinträchtigung des durch die Glucosegabe auf die Darmwand ausgelösten Reizes für die Sekretion intestinaler Hormone, die ihrerseits auf die Insulinabgabe einwirken (16, 34).

Bei den Patienten mit Diabetes mellitus konnte mit Ausnahme von drei Fällen (1 Rüden, 2 Hündinnen) immer immunologisch meßbares Insulin nachgewiesen werden. Die Konzentrationen lagen, wenn man von vier Patienten absieht, im Bereich der bei klinisch gesunden Hunden gefundenen. Zwei Tiere hatten Werte über 100 μ E/ml, beide waren adipös. Es waren aber auch unter den Diabetikern mit unauffälligen Insulinwerten fette Hunde vertreten. (Tab. 19, 20) Teunissen, der unseres Wissens bisher als einziger Insulinbestimmungen bei spontan diabetischen Hunden vorgenommen hat, fand bei seinen acht Fällen, abgesehen von zwei Hunden, bei denen kein Insulin nachweisbar war, im Normalbereich liegende Werte.

Er weist darauf hin, daß unter den Fällen mit fehlendem oder wenigem Insulin drei Rüden und nur eine Hündin sind. Wir haben dagegen einen hohen Insulinspiegel auch bei einem diabetischen Rüden beobachtet (D 5, Tab. 19).

In der Humanmedizin wird ein Zusammenhang zwischen dem Anstieg des IMI und hohen Serum-Harnstoff-Konzentrationen vermutet (2). Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Diabetikern wiesen zwei Patienten (D 5 und D 18) starke Harnstoffretentionen bei gleichzeitig hohen Serum-Insulin-Werten auf. Hingegen zeigt D 17 bei hohem Insulinwert immer normalen Serum-Harnstoff-Gehalt.

Bei den sieben Hunden, bei denen ein Hypercorticismus festgestellt wurde, bzw. wahrscheinlich vorgelegen hat, fanden wir bei der Mehrzahl, nämlich bei fünf Tieren, IMI-Werte, die wesentlich über denen bei klinisch gesund erscheinenden Tieren lagen. Bei zwei Patienten (C 1 und C 2, s. Tab. 21) lagen sie immerhin im oberen Bereich der "Norm". Dies stimmt wiederum gut mit den Beobachtungen von Teunissen (44) überein.

Leider konnte nur bei drei extrem adipösen Hunden das Serum-insulin immunologisch bestimmt werden. Da alle Werte hoch liegen und dies mit den Befunden bei adipösen Menschen übereinstimmt (17, 42), wäre es interessant und wichtig, dem auch unter Hinzuziehung von Glucose-Toleranz-Tests weiter nachzugehen. Unter Umständen würde es so gelingen, eine latent diabetische Stoffwechsellage beim Hund zu erfassen und einer Behandlung zugänglich zu machen.

V. Zusammenfassung:

1. Mit dem Radioimmunbesteck der Farbwerke Hoechst AG wurde Insulin im Serum von 71 Hunden und 6 Katzen bestimmt. Bei diesem Verfahren wird das Insulin an einen Antikörper gebunden. Die Inkubation erfolgt 17 Stunden lang bei Zimmertemperatur. Zur Trennung des antikörpergebundenen Insulins vom freien Insulin wird letzteres an Cellulose adsorbiert. Auf die Durchführung dieser Insulin-Bestimmungs-Methode wird ausführlich eingegangen. Die ermittelte Serum-Insulin-Konzentration wird in $\mu\text{E/ml}$ Serum angegeben und ist auf einen Standard aus Schweineinsulin bezogen.
2. Der methodische Fehler (Variabilitätskoeffizient v) betrug 33,37%. Die möglichen Ursachen für die Höhe des methodischen Fehlers werden diskutiert.
3. Bei klinisch gesund erscheinenden Teckeln, Pudeln und Schäferhunden beiderlei Geschlechts wurde immunologisch meßbares Insulin im Serum bestimmt. Die Nüchternwerte streuen erheblich; sie liegen zwischen 2 und 50 $\mu\text{E/ml}$; es liegt keine Normalverteilung vor. Zur Charakterisierung des Normalwertes wurde der gesamte Streuungsbereich angegeben. Bei bloßer Betrachtung der Einzelwerte fallen die mehrheitlich etwas höheren Werte bei den Hündinnen auf. Ein nach den Regeln der Statistik zu führender Vergleich zwischen Rüden und Hündinnen war an dem vorliegenden Material leider nicht vorzunehmen.

4. Von fünf klinisch gesunden Hunden wurden Tagesprofile für Blutzucker und immunologisch meßbares Insulin angefertigt. In der Zeit von 8 bis 20 Uhr wurde stündlich Blut entnommen. Bei der Mehrzahl der Hunde waren deutliche Schwankungen des immunologisch meßbaren Insulins festzustellen. Zwei Hunde hatten nur zum Zeitpunkt der sonst üblichen Fütterung einen Anstieg des immunologisch meßbaren Insulins zu verzeichnen.
5. Bei acht gesunden Hunden wurden orale Glucosebelastungen durchgeführt. Die Tiere erhielten 1,5 g D-Glucose pro kg Körpergewicht in 40%iger Lösung per os. Blutzucker und immunologisch meßbares Insulin wurden im Abstand von 30 Minuten bis zu drei Stunden nach der Eingabe bestimmt. Der mittlere Anstieg des Blutzuckers betrug 23,7 mg% der des Insulins 33,7 μ E
6. Bei sechs gesunden Katzen wurden immunologisch meßbare Werte zwischen 5 und 17 μ E/ml bestimmt.
7. Das Serum von 5 Rüden, 13 Hündinnen und einem kastrierten Kater mit Diabetes mellitus wurde auf den Gehalt an immunologisch meßbarem Insulin untersucht, die Tiere waren zum Zeitpunkt der Blutabnahme nüchtern und hatten noch kein Fremdinsulin erhalten. Bei einem Rüden und zwei Hündinnen konnte kein Insulin nachgewiesen werden, bei drei Rüden und acht Hündinnen lag der Insulinwert im Bereich der Norm, und bei einem Rüden und zwei Hündinnen wurden erhöhte Werte gemessen. Bei dem kastrierten Kater wurde ein geringer Insulingehalt im Serum bestimmt.

8. Bei sieben Hunden, bei denen ein Hypercorticismus festgestellt oder vermutet wurde, war das immunologisch meßbare Insulin in fünf Fällen deutlich erhöht, bei zwei Hunden lagen die Werte im oberen normalen Bereich. Im Verlaufe eines oralen Glucose-Toleranz-Tests bei zwei Hunden kam es zu einem hohen Insulinanstieg.
9. Serum-Insulin-Bestimmungen bei sieben Hunden, die an einer exkretorischen Pankreasinsuffizienz erkrankt waren, ergaben Insulinwerte im unteren Bereich der Norm zwischen 0 und 16 μ E/ml Serum. Bei drei Patienten wurden orale Glucosebelastungen durchgeführt, sie ergaben teils normale, teils sehr flache Insulin-Verlaufs-Kurven.
10. Der immunologisch meßbare Insulingehalt im Serum von drei extrem adipösen Hunden lag zwischen 65 und 94 μ E/ml.

VI. Literaturverzeichnis:

- 1 Altszuler, N. (1968) The Effekt of Growth Hormone on
u. Mitarbeiter Carbohydrate and Lipid Metabolism
in the Dog
Ann. New York Acad. Scienc.
148, S. 441-458
- 2 Bagdade, J.D. (1967) Uremic Lipemia: A Metabolic
D. Porte u. Consequence of Chronic Renal
E.L. Biermann Failure and Hemodialysis
Clin. Research 15, S. 314
- 3 Blackard, W.G. (1967) Insulin Secretion in Hypothermic
N.C. Nelson u. Dogs
J.A. Labat Am. J. Physiol. 212, S. 1185-1187
- 4 Bloom, F. (1960) The Blood Chemistry of the Dog
and Cat
Damma Publicat. INC New York, S. 43
- 5 Capen, C. (1969) Hyperinsulinism in Dogs with
S.L. Martin Neoplasia of the Pancreatic Islets
Pathologia Veterinaria 6 Nr. 4
S. 309-341
- 6 Cornelius, C.E. (1963) Clinical Biochemistry of Domestic
J.J. Kaneko Animals
Academic Press, New York, London
zit. nach Saure (38)
- 7 Ditschuneit Kohlenhydratstoffwechsel in (41)
- 8 Förster, H.
u. H. Mehnert
- 9 Gärtner, K. (1968) Untersuchungen zur Disposition
A. Kirschner u. der Hündin für Diabetes mellitus
J. Mandl Zbl. f. Vet. Med. A. 15, S. 517-531
- 10 Goetz, F.C. (1963) A Simple Immunoassay for Insulin:
u. Mitarbeiter Applikation to Human and Dog
Plasma
J. Clin. Endocrin. Metabolism
23, S. 1237-1246
- 11 Grimminger, H. Die Inselzellhormone: Der Abbau
E. Kallee von Insulin (32)
- 12 Groen, J. (1952) Evidence for the Presence of
u. Mitarbeiter Insulin in Blood Serum. A Method
for an Approximate Determination
of the Insulin Content of Blood
J. Clin. Invest. 31, S. 97-106
- 13 Hales, C.N. (1963) Biochemical Journal 88, S. 137
P.J. Randle
- 14 Heard, C.R.C. (1969) The Insulogenic Response to
Pamela A.J. Henry Intravenous Glucose in Dogs Fed
Diets of Different Protein Value
J. Endocr. 45, S. 375-386

- 15 Herbert, Victor (1965) Coated Charcoal Immunoassay of
u. Mitarbeiter Insulin
J.Clin.Endocrin 25, S.1375-1384
- 16 Intyre, Mc. (1964) Lancet II, S. 20-21
- 17 Jørgensen, Kai R. (1969) Radioimmunoassay of Insulin in
Plasma and Urine in Obese Subjects
and in Diabetic Patients
Acta Endocr. 60, S. 719-736
- 18 Kaneko, J.J. Selected Organ Function Tests
in (6)
- 19 Kerp, L. (1966) Ein Verfahren zum Nachweis insulin-
S.Steinhilber u. bindender Antikörper durch
H.Kasemir Differentialadsorption
Klin.Wochenschr. 44, S. 560-567
- 20 Klein, E. (1967) Die Pathogenese des Diabetes
mellitus. Die endokrine Regulation
des Fettstoffwechsels
12. Symposion der Deutschen
Gesellschaft für Endocrinologie.
2. Jahrestagung der Deutschen
Diabetes Gesellschaft in Wiesbaden
vom 21. - 23. 4.66
Springer Verlag Berlin
- 21 Klostermeyer, H. (1966) Chemie u. Biochemie des Insulins
R.E. Humbel Angewandte Chemie, Herausgeber:
Gesellschaft Deutscher Chemiker
78.Jahrgang 18/19, S. 871-886
- 22 Kruiningen, H.J. van (1968) The Malabsorption Syndrome in
Current Veterinary Therapie III
Small Animal Practice. Kirk
W.B.Saunders Company Philadelphia
- 23 Martin, D.B. (1958) An Assay for Insulin-Like-
A.E. Renold u. Activity Using Rat Adipose Tissue
Y.M. Dagenais Lancet II, S. 76-77
- 24 Meade, R.C. (1962) A Simplified Method for Immuno-
H.M. Klitgaard assay of Human Serum Insulin
J.Nucl.Med. 3, S. 407-416
- 25 Meade, R.C. (1969) Absence of Glucose Response to
u. Mitarbeiter Physiologic Levels of Serum
Insulin
Diabetes 18, S. 397-401
- 26 Melani, F. (1965) Über die Radioimmunologische
u. Mitarbeiter Bestimmung von Insulin im Blut
Klin.Wochenschr. 43, S.1000-1007
- 27 Modigliani, E. (1970) Effets du glucose et de l'arginine
u. Mitarbeiter sur la sécrétion d'insuline au
cours des syndromes de Cushing
Diabetologica 6, S. 8-14

- 28 Morgan, C.R.
A. Lazarow (1963) Immunoassay of Insulin: Two Antibody System. Plasma Insulin Levels of Normal, Subdiabetic, and Diabetic Rats Diabetes 12, S. 115-126
- 29 Niemann, E. Persönliche Mitteilung
- 30 Pfeiffer, E.F.
u. Mitarbeiter (1959) Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fettanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glucose I. Methodik und Fehlerbreite S. 1234-1239 II. Experimentelle und klinische Erfahrungen S. 1239-1245 Klinische Wochenschrift 37
- 31 Pfeiffer, E.F.
u. Mitarbeiter (1965) Radioimmunologische Bestimmung des Insulins Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. S. 276-297
- 32 Pfeiffer, E.F.
u. Mitarbeiter (1969) Handbuch des Diabetes mellitus J.F. Lehmanns Verlag München
- 33 Pfeiffer, E.F.
H. Ditschuneit u.
K. Federlin Die Inselzellhormone: Die Immunologie des Insulins in (32)
- 34 Pfeiffer, E.F.
R. Ziegler Die Inselzellhormone: Die Insulinsekretion in vivo in (32)
- 35 Randle, P.J.
B. Chir (1954) Assay of Plasma Insulin Activity by the Rat Diaphragm Method Brit. Med. J. 29, S. 1237-1240
- 36 Renold, A.E.
u. Mitarbeiter (1960) Hormones in Human Plasma. Little Brown & Co., Boston, S. 49 (Vergleichende Bewertung der Methoden) in 21.)
- 37 Renold, A.E.
u. Mitarbeiter (1960) Measurement of Small Quantities of Insulin-Like-Activity Using Rat Adipose Tissue. I. A Proposed Procedure J. Clin. Invest 39, S. 1487-1498
- 38 Rosselin, G.
u. Mitarbeiter (1966) Separation of Antibody-Bound and Unbound Peptide Hormones Labelled with Iodine ¹³¹ by Talcum Powder and Precipitated Silica Nature 212, S. 355-358
- 39 Saure, E. (1963) Insulinaktivitäten im Plasma von Hunden nach Pankreatektomie Med. Diss. Frankfurt

- 40 Schöbel, Ch. (1968) Vergleichende Untersuchungen mit vier verschiedenen Blutzuckerbestimmungsmethoden und Blutzuckerwerte bei klinisch gesunden Hunden
Berliner u. Münchener Tierärztliche Wochenschrift 81, S. 316-321
- 41 Schöffling, K. u. Mitarbeiter (1965) Über die Beeinflussung der biologischen Seruminsulinaktivitäten und des immunologischen Insulins durch Hypophysektomie und Wachstumshormonbelastung
Verh.d.dt.Gesellschaft f.Innere Med.Kongreßbericht Wiesbaden 1965 S. 355-359
- 42 Siegenthaler, W. (1970) Klinische Pathophysiologie
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- 43 Skom, J.H. D.W. Talmage (1958) Nonprecipitating Insulin Antibodies
J.Clin.Invest. 37, S. 783-786
- 44 Teunissen, G.H.B. u. Mitarbeiter (1970) Der Insulingehalt im Blut bei Diabetes mellitus und einigen anderen Erkrankungen des Hundes
Die Kleintierpraxis 15, S. 29-31
- 45 Unger, R.H. (1957) The Standard Two Hour Oral Glucose Tolerance Test in the Diagnosis of Diabetes mellitus in Subjects without Fasting Hyperglycemia
Ann.of Intern.Med. 47, S. 1138-1153
- 46 Vallance-Owen, J. B. Hurlock (1954) Estimation of Plasma-Insulin by the Rat-Diaphragm Method
The Lancet S. 68-70
- 47 Vries, L.A. de J.J. van Datselaar (1955) Klin. Diagnostiek by Gorter aus W.G. de Graff 7^{de} druck, bez. 278-281 Leiden
H.E. Stenfert Kroese N.V.
- 48 Weber, E. (1967) Grundriß der biologischen Statistik
Gustav Fischer-Verlag Stuttgart
- 49 Weller, H. Ärztliches Labor 9, S. 321-329
- 50 Wilkinson, J.S. (1962) Diseases of the pancreas in the Dogs aus Advances in Small Animal Practice 4
- 51 Yalow, R.S. S.A. Berson (1959) Assay of Plasma Insulin in Human Subjects by Immunological Methods
Nature 21, S. 1648-1649
- 52 Yalow, R.S. (1960) Immunoassay of Endogenous Plasma Insulin in Man
J.Clin.Invest. 39, S. 1157-1175
- 53 Yalow, R.S. S.A. Berson (1964) Immunoassay of Plasma Insulin Methods of Biochemical Analysis 12, S. 69-96

Zum Abschluß meiner Arbeit möchte ich Frau Prof. Dr. E. Lettow für die Überlassung des Themas und Frau Dr. M. Opitz für die Unterstützung bei der Ausführung der Versuche danken.

Herrn Prof. Dr. Dr. K. Drepper, Direktor des Institutes für Veterinär-Biochemie, danke ich für die Erlaubnis, in der Isotopen-Abteilung die Insulinbestimmungen durchführen zu dürfen. Seinem Assistenten Herrn Dr. C. P. Kedenburg und insbesondere seiner technischen Assistentin Frau D. Schwarz danke ich für wertvolle Ratschläge.

Herrn Dr. H. Weiß - Abteilung Biometrie des Fachbereiches Veterinärmedizin - danke ich für die Beratung zur statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Herrn Prof. Dr. W. Renk und Herrn Prof. Dr. H. Loppnow - Institut für Veterinär-Pathologie - sei an dieser Stelle für die Bereitstellung der pathologisch-anatomischen Diagnosen gedankt.

Lebenslauf

Am 19. 1. 1943 wurde ich als einziges Kind des Prokuristen Alfred Kurz und seiner Ehefrau Luise, geb. Steiner in Wels, Kreis Linz in Österreich geboren.

Ich besuchte folgende Schulen: von 1949 bis 1953 die Volksschule und von 1953 bis 1955 das Lyceum in Gelsenkirchen-Buer, von 1955 bis 1960 die Viktoriaschule in Essen und von 1960 bis 1963 die Uplandschule in Willingen/Waldeck, an der ich am 22.2.1963 das Abitur ablegte.

Mein Studium der Veterinärmedizin begann ich im Sommersemester 1963 an der Justus-Liebig-Universität in Gießen, an der ich am 29.4.1964 das Vorphysikum ablegte. Zum Wintersemester 1964/65 wechselte ich meinen Studienplatz nach Berlin und bestand am 7.10.1965 an der Freien Universität das Physikum und am 7.11.1968 das Staatsexamen. Die praktische Ausbildung während meiner Studienzeit erhielt ich an der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere und in einer Berliner Kleintierpraxis.

Am 23.5.1969 heiratete ich den cand.med.vet. Walter Becker.

